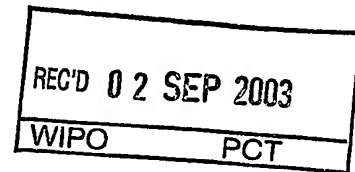


10/522106



**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung  
einer Patentanmeldung**

**Aktenzeichen:** 102 33 327.0  
**Anmeldetag:** 22. Juli 2002  
**Anmelder/Inhaber:** BASF Plant Science GmbH,  
Ludwigshafen/DE  
**Bezeichnung:** Verfahren zum Erreichen einer Pathogen-  
resistenz in Pflanzen  
**IPC:** A 01 H, C 12 N

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 24. Juli 2003  
Deutsches Patent- und Markenamt  
Der Präsident  
Im Auftrag

**PRIORITY  
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Ebert

# Verfahren zum Erreichen einer Pathogenresistenz in Pflanzen

## Beschreibung

5

Die Erfindung betrifft Verfahren zur Erzeugung oder Erhöhung einer Pathogenresistenz in Pflanzen durch Verminderung der Expression, Aktivität oder Funktion einer NADPH Oxidase.

- 10 Ziel biotechnologischer Arbeiten an Pflanzen ist die Herstellung von Pflanzen mit vorteilhaften, neuen Eigenschaften zum Beispiel zur Steigerung der landwirtschaftlichen Produktivität. Oft sind die natürlichen Abwehrmechanismen der Pflanze gegen Pathogene unzureichend. Allein Pilzerkrankungen führen zu Ernteverlusten
- 15 in der Höhe von vielen Milliarden US-\$ jährlich. Die Einführung fremder Gene aus Pflanzen, Tieren oder mikrobiellen Quellen kann die Abwehr verstärken. Beispiele sind der Schutz gegen Insektenfrass durch Expression von *Bacillus thuringiensis* Endotoxinen (Vaecck et al. (1987) Nature 328:33-37) oder der Schutz gegen
- 20 Pilzbefall durch Expression einer Chitinase aus Bohne (Broglie et al. (1991) Science 254:1194-1197). Die meisten der beschriebenen Ansätze gewähren jedoch nur eine Resistenz gegen ein einzelnes Pathogen oder gegen ein schmales Spektrum von Pathogenen.
- 25 Es gibt nur wenige Ansätze, die Pflanzen eine Resistenz gegen ein breiteres Spektrum von Pathogenen verleihen. Die systemische erworbene Resistenz ("systemic acquired resistance"; SAR) - ein Abwehrmechanismus bei verschiedenen Pflanze/Pathogen-Interaktionen - kann durch Applikation von endogene Botenstoffe
- 30 wie Jasmonsäure (JA) oder Salicylsäure (SA) vermittelt werden (Ward et al. (1991) Plant Cell 3:1085-1094; Uknes et al. (1992) Plant Cell 4(6):645-656). Ähnliche Effekte können auch durch synthetische Verbindungen wie 2,6-Dichlorisonikotinsäure (INA) oder Benzo(1,2,3)thiadiazol-7-thiocarbonsäure-S-methylester
- 35 (BTH; Bion®) bewirkt werden (Friedrich et al. (1996) Plant J 10(1):61-70; Lawton et al. (1996) Plant J 10:71-82). Auch die Expression der im Rahmen eines SAR hochregulierten "pathogenesis related" (PR) Proteine vermag zum Teil eine Pathogenresistenz zu bewirken.
- 40
- In Gerste ist der Mlo-Locus als negativer Regulator der Pathogenabwehr beschrieben. Der Verlust des Mlo-Gens bedingt eine erhöhte und rassen-unspezifische Resistenz gegen zahlreiche Arten von Mehltau (Büschges R et al. (1997) Cell 88:695-705; Jorgensen JH
- 45 (1977) Euphytica 26:55-62; Lyngkjaer MF et al. (1995) Plant Pathol 44:786-790). Durch klassische Züchtung erhaltene Mlo-defiziente Gerstensorten werden bereits in der Landwirtschaft

verwendet. Vermutlich aufgrund der Rezessivität hat sich trotz eines intensiven Anbaus die Resistenz als dauerhaft erwiesen. Mlo-ähnliche Resistenzen in anderen Pflanzen v.a. in Getreidearten sind nicht beschrieben. Das Mlo-Gen und verschiedene Homologe aus anderen Getreidearten wurde identifiziert und kloniert (Büschges R et al. (1997) Cell 88:695-705; WO 98/04586; Schulze-Lefert P, Vogel J (2000) Trends Plant Sci. 5:343-348). Verschiedene Verfahren unter Verwendung dieser Gene zum Erzielen einer Pathogenresistenz sind beschrieben (WO 98/04586; WO 00/01722; 10 WO 99/47552). Nachteilig ist, dass der Mlo-vermittelte Abwehrmechanismus ein spontanes Absterben von Blattzellen umfasst (Wolter M et al. (1993) Mol Gen Genet 239:122-128). Nachteilig ist ferner, dass die Mlo-defizienten Genotypen eine Hypersenszeptibilität gegen hemibiotrophe Pathogene wie *Magnaporthe grisea* 15 (*M. grisea*) sowie *Cochliobolus sativus* (*Bipolaris sorokiniana*) zeigen (Jarosch B et al. (1999) Mol Plant Microbe Interact 12:508-514; Kumar J et al. (2001) Phytopathology 91:127-133).

Die Freisetzung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS; z.B. Superoxid 20 ( $O_2^-$ ), Hydroxylradikale und  $H_2O_2$ ) wird eine wichtige protektive Funktion in der Reaktion auf pflanzliche Pathogene zugeordnet (Wojtaszek P (1997) Biochem J 322:681-692). Es sind verschiedene Wege bekannt, wie eine Zelle ROS zu produzieren vermag. In den Makrophagen von Säugetieren ist hier insbesondere die NADPH 25 Oxidase zu nennen, die Elektronen auf molekularen Sauerstoff zu übertragen vermag. Homologe Enzyme wurden auch in Pflanzen identifiziert (Lamb & Dixon (1997) Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 48:251).

30 Es wurde gezeigt, dass Mutationen in der katalytischen Untereinheit der NADPH-Oxidase in *Arabidopsis thaliana* eine verminderte Akkumulation reaktiver Sauerstoffintermediate (ROI) zeigen. In Bezug auf die Hypersensitive Reaktion (HR) war das Bild uneinheitlich: Bei einer Doppelmutante wurde bei Infektion mit dem 35 avirulenten *Pseudomonas syringae* Bakterium eine verminderte HR gefunden, während mit dem virulenten Oomyceten *Peronospora parasitica* eine erhöhte HR detektiert wurde. Das Wachstum - sowohl von virulenten als auch von avirulenten *P. syringae* Stämmen - war jedoch - im Vergleich zu Wildtyp-Pflanzen - nicht verändert 40 (Torres MA et al. (2002) Proc Natl Acad Sci USA 99:517-522). Ebenso hatte die Inhibition der NADPH-Oxidase mittels des Inhibitors Diphenyleniodoniumchlorid (DPI) - bei Einsatz physiologisch relevanter Konzentrationen - keinen Effekt auf die Entwicklung pathogener Pilze (Hückelhoven R & Kogel KH (1998) Mol Plant 45 Microbe Interact 11:292-300). Ein cDNA Fragment einer Phagozyten NADPH-Oxidase aus Gerste (pNAox, Homolog der großen Untereinheit

gp91phox einer Phagozyten NADPH-Oxidase) ist unter der GenBank Acc.-No.: AJ251717) beschrieben.

Der vorliegenden Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, neue Verfahren zur Pathogenabwehr in Pflanzen bereitzustellen, die eine effiziente Abwehr eines möglichst breiten Spektrum von Pathogenen in möglichst vielen verschiedenen Pflanzenarten, bevorzugt den in der Landwirtschaft verwendeten Kulturpflanzen bewirken. Diese Aufgabe wird durch das erfindungsgemäße Verfahren gelöst.

10

Ein erster Gegenstand der Erfindung umfasst ein Verfahren zur Erzeugung oder Erhöhung der Resistenz gegen mindestens ein Pathogen in Pflanzen, dadurch gekennzeichnet, dass nachfolgende Arbeitsschritte umfasst sind

15

a) Verminderung der Proteinmenge, Aktivität oder Funktion einer NADPH-Oxidase in einer Pflanze oder einem Gewebe, Organ, Teil oder Zelle derselben und

20 b) Auswahl der Pflanzen, bei denen - im Unterschied oder Vergleich zur Ausgangspflanze - die Resistenz gegen mindestens ein Pathogen besteht oder erhöht ist.

Überraschenderweise zeigt die Verminderung der Expression einer NADPH-Oxidase aus Gerste (pNAox) in der epidermalen Zelle durch einen sequenzspezifischen RNA-Interferenz Ansatz unter Verwendung doppelsträngiger pNAox-dsRNA ("Gene-Silencing") einen signifikant reduzierten Befall infolge einer Bgh-Infektion (gemessen anhand der Haustorium-Ausbildung). Dieser Befund ist insbesondere deshalb überraschend, da der mit der NADPH-Oxidase in Verbindung gebrachten Freisetzung reaktiver Sauerstoffspezies ("oxidative burst") im allgemeinen eine protektive Funktion zugemessen wird.

Ähnlich wie Mlo vermittelt die Verminderung der NADPH-Oxidase Expression eine breite Resistenz gegen verschiedene Isolate von Blumeria graminis f.sp. hordei. In transienten "Gene-Silencing"-Experimenten wird dabei die Penetrationseffizienz (Haustorien-Bildung) von Bgh signifikant um mehr als 35 % reduziert - ein Effekt, der in seiner Stärke dem mittels Mlo-dsRNA erreichten entspricht (Schweizer P et al. (2000) Plant J 24:895-903). In der Wildtyp Gerstensorte Pallas führen ca. 40 % der Pilzpenetrationen zu einer Haustorien-Bildung, wohingegen die Penetrationsrate bei einer Verminderung der NADPH-Oxidase Expression mittels Einbringen einer doppelsträngigen RNA der NADPH-Oxidase (pNAox-dsRNA) nur ca. 25 % beträgt. Die Tatsache, dass auch in pathogenempfindlichen Wildtyp-Sorten wie Pallas nur eine Penetration von ca. 40 bis 50 % beobachtet werden kann, ist auf die stets

vorhandene Basalresistenz zurückzuführen. Die NADPH-Oxidase ist aufgrund der dieser Befunde als Schlüsselement für das erfolgreiche Eindringen eines Pathogens wie Bgh in die pflanzliche Zelle zu verstehen. Darüberhinaus ist das Verfahren allen  
5 Verfahren überlegen, bei denen ein pathogen-resistenter Phänotyp durch Überexpression eines resistenzvermittelnden Proteins realisiert wird. Das Ausschalten eines Gens, lässt sich ohne Expression eines (Fremd)-Proteins realisieren. Im Idealfall wird lediglich das endogene Gen deaktiviert. Dies hat nicht zu ver-  
10 nachlässigende Vorteile bei der Zulassung und der Akzeptanz durch den Verbraucher, der Pflanzen mit Fremdproteinen oft mit Vorbehalt begegnet. Ganz besonders vorteilhaft ist in diesem Zusammenhang die Verwendung von induzierbaren Promotoren zur Verminderung der NADPH-Oxidase menge, Aktivität oder Funktion, was beispielsweise bei Verwendung von pathogeninduzierbaren Promotoren eine  
15 Expression nur im Bedarfsfall (d.h. Pathogenbefall) ermöglicht.

Das erfindungsgemäße Verfahren kann im Prinzip auf alle Pflanzenarten angewendet werden. Bevorzugt auf solche, in denen natür-  
20 licherweise eine NADPH-Oxidase oder ein funktionelles Äquivalent derselben exprimiert wird.

"Pflanze" im Rahmen der Erfindung meint alle Gattungen und Arten höherer und niedrigerer Pflanzen des Pflanzenreiches.  
25 Eingeschlossen unter dem Begriff sind die reifen Pflanzen, Saatgut, Sprossen und Keimlinge, sowie davon abgeleitete Teile, Vermehrungsgut, Pflanzenorgane, Gewebe, Protoplasten, Kallus und andere Kulturen, zum Beispiel Zellkulturen, sowie alle anderen Arten von Gruppierungen von Pflanzenzellen zu funktionellen oder  
30 strukturellen Einheiten. Reife Pflanzen meint Pflanzen zu jedem beliebigen Entwicklungsstadium jenseits des Keimlings. Keimling meint eine junge, unreife Pflanze in einem frühen Entwicklungsstadium. "Pflanze" umfasst alle einjährigen und mehrjährige, monokotyledonen und dikotyledonen Pflanzen und schließt beispiel-  
35 haft jedoch nicht einschränkend solche der Gattungen Cucurbita, Rosa, Vitis, Juglans, Fragaria, Lotus, Medicago, Onobrychis, Trifolium, Trigonella, Vigna, Citrus, Linum, Geranium, Manihot, Daucus, Arabidopsis, Brassica, Raphanus, Sinapis, Atropa, Capsicum, Datura, Hyoscyamus, Lycopersicon, Nicotiana, Solarium,  
40 Petunia, Digitalis, Majorana, Cichorium, Helianthus, Lactuca, Bromus, Asparagus, Antirrhinum, Heterocallis, Nemesis, Pelargonium, Panieum, Pennisetum, Ranunculus, Senecio, Salpiglossis, Cucumis, Browaalia, Glycine, Pisum, Phaseolus, Lolium, Oryza, Zea, Avena, Hordeum, Secale, Triticum, Sorghum, Picea und Populus  
45 ein.

## 5

Der Begriff "Pflanze" umfasst bevorzugt monokotyle Kulturpflanzen, wie zum Beispiel Getreidearten wie Weizen, Gerste, Hirse, Roggen, Triticale, Mais, Reis, Sorghum oder Hafer sowie Zuckerrohr.

5

Ferner umfasst der Begriff dikotyle Kulturpflanzen, wie zum Beispiel

- 10 - Brassicaceae wie Raps, Canola, Kresse, Arabidopsis, Kohlarten oder Canola, Leguminosae wie Soja, Alfalfa, Erbse, Bohnengewächsen oder Erdnuss
  - 15 - Solanaceae wie Kartoffel, Tabak, Tomate, Aubergine oder Paprika, Asteraceae wie Sonnenblume, Tagetes, Salat oder Calendula,
  - Cucurbitaceae wie Melone, Kürbis oder Zucchini,
- sowie Lein, Baumwolle, Hanf, Klee, Spinat, Flachs, Roter Pfeffer, 20 Möhre, Karotte, Rübe, Rettich, Zuckerrübe, Süßkartoffel, Gurke, Chicorée, Blumenkohl, Brokkoli, Spargel, Zwiebel, Knoblauch, Sellerie, Erdbeere, Himbeere, Brombeere, Ananas, Avocado, und den verschiedenen Baum-, Strauch-, Nuss- und Weinarten. Baumarten umfasst bevorzugt Pflaume, Kirsche, Pfirsich, Nektarine, 25 Aprikose, Banane, Papaya, Mango, Apfel, Birne, Quitte.

Ferner umfasst sind Schmuckpflanzen, Nutz- oder Zierbäume, Blumen, Schnittblumen, Sträuchern oder Rasen wie beispielhaft aber nicht einschränkend die Familien der Rosaceae wie Rose,

- 30 Ericaceae wie Rhododendrons und Azaleen, Euphorbiaceae wie Weihnachtssterne und Kroton, Caryophyllaceae wie Nelken, Solanaceae wie Petunien, Gesneriaceae wie das Usambaraveilchen, Balsaminaceae wie das Springkraut, Orchidaceae wie Orchideen, Iridaceae wie Gladiolen, Iris, Freesie und Krokus, Compositae wie Ringelblume, Geraniaceae wie Geranien, Liliaceae wie der Drachenbaum, 35 Moraceae wie Ficus, Araceae wie Philodendron und andere mehr.

Im Rahmen der Erfindung sind solche Pflanzen bevorzugt, die als Nahrungs- oder Futtermittel zum Einsatz kommen, ganz besonders 40 bevorzugt monokotyle Gattungen und Arten, wie die beschriebenen Getreidearten.

Ganz besonders bevorzugt wird das Verfahren auf monokotyle Pflanzen, am meisten bevorzugt auf Pflanzen mit landwirtschaftlicher Bedeutung wie Weizen, Hafer, Hirse, Gerste, Roggen, Mais, 45

Reis, Buchweizen, Sorghum, Triticale, Dinkel, Leinsamen oder Zuckerrohr angewendet.

"Pathogenresistenz" meint das Vermindern oder Abschwächen von Krankheitssymptomen einer Pflanze infolge eines Befalls durch ein Pathogen. Die Symptome können vielfältiger Art sein, umfassen aber bevorzugt solche die direkt oder indirekt zu einer Beeinträchtigung Qualität der Pflanze, der Quantität des Ertrages, der Eignung zur Verwendung als Futter- oder Nahrungsmittel führen oder aber auch Aussaat, Anbau, Ernte oder Prozessierung des Erntegutes erschweren.

"Verleihen", "bestehen", "erzeugen" oder "erhöhen" einer Pathogenresistenz meint, dass die Abwehrmechanismen einer bestimmten Pflanzensorte durch Anwendung des erfindungsgemäßen Verfahrens im Vergleich zu dem Wildtyp der Pflanze ("Ausgangspflanze"), auf den das erfindungsgemäße Verfahren nicht angewendet wurde, unter ansonsten gleichen Bedingungen (wie beispielsweise Klima- oder Anbaubedingungen, Pathogenart etc.) eine erhöhte Resistenz gegen ein und mehr Pathogene aufweist. Dabei äußert sich die erhöhte Resistenz bevorzugt in einer verminderten Ausprägung der Krankheitssymptome, wobei Krankheitssymptome - neben den oben erwähnten Beeinträchtigungen - auch beispielsweise die Penetrationseffizienz eines Pathogens in die Pflanze oder pflanzliche Zellen oder die Proliferationseffizienz in oder auf denselben umfasst. Dabei sind die Krankheitssymptome bevorzugt um mindestens 10 % oder mindestens 20 %, besonders bevorzugt um mindestens 40 % oder 60 %, ganz besonders bevorzugt um mindestens 70 % oder 80 %, am meisten bevorzugt um mindestens 90 % oder 95 % vermindert.

"Auswahl" meint in Bezug auf Pflanzen, bei denen - im Unterschied oder Vergleich zur Ausgangspflanze - die Resistenz gegen mindestens ein Pathogen besteht oder erhöht ist, all die Verfahren, die eine zur Erkennung einer vorliegenden oder erhöhten Pathogenresistenz geeignet sind. Dies können Symptome der Pathogeninfektion sein (z.B. Haustorium-Ausbildung bei Pilzinfektion) aber auch die oben beschriebenen Symptome umfassen, die die Qualität der Pflanze, die Quantität des Ertrages, die Eignung zur Verwendung als Futter- oder Nahrungsmittel usw. betreffen.

"Pathogen" meint im Rahmen der Erfindung beispielsweise jedoch nicht einschränkend Viren oder Viroide, Bakterien, Pilze, tierische Schädlinge, wie beispielsweise Insekten oder Nematoden. Besonders bevorzugt sind Pilze wie beispielsweise der Mehltau. Es ist jedoch anzunehmen, dass die Verminderung der Expression einer NADPH-Oxidase, ihrer Aktivität oder Funktion auch eine Resistenz

gegen weitere Pathogene bewirkt. Beispielsweise jedoch nicht einschränkend seien nachfolgende Pathogene zu nennen:

1. Pilzpathogene oder pilzähnliche Pathogene:

5

Pilzpathogene oder pilzähnliche Pathogene (wie z.B. Chromista) stammen vorzugsweise aus der Gruppe umfassend Plasmodiophoromycota, Oomycota, Ascomycota, Chytridiomyceten, Zygomyceten, Basidiomycota und Deuteromyceten (Fungi imperfecti). Beispielhaft jedoch nicht einschränkend seien die in Tabelle 1 und 2 genannten Pathogene und die mit ihnen in Zusammenhang gebrachten Erkrankungen zu nennen.

10

Tabelle 1: Pflanzliche Pilzerkrankungen

15

Erkrankung	Pathogen
Braunrost	<i>Puccinia recondita</i>
Gelbrost	<i>P. striiformis</i>
20 Echter Mehltau	<i>Erysiphe graminis</i> / <i>Blumeria graminis</i>
Spelzenbräune	<i>Septoria nodorum</i>
Blattdürre	<i>Septoria tritici</i>
Ährenfusariosen	<i>Fusarium</i> spp.
25 Halmbruchkrankheit	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i>
Flugbrand	<i>Ustilago</i> spp.
Weizensteinbrand	<i>Tilletia caries</i>
Schwarzbeinigkeit	<i>Gaeumannomyces graminis</i>
30 Anthracnose leaf blight	<i>Colletotrichum graminicola</i> (teleomorph: <i>Glomerella graminicola</i> Politis); <i>Glomerella tucumanensis</i> (anamorph: <i>Glomerella falcata</i> Went)
Anthracnose stalk rot	
Aspergillus ear and kernel rot	<i>Aspergillus flavus</i>
35 Banded leaf and sheath spot ("Wurzelzötter")	<i>Rhizoctonia solani</i> Kuhn = <i>Rhizoctonia microsclerotia</i> J. Matz (telomorph: <i>Thanatephorus cucumeris</i> )
Black bundle disease	<i>Acremonium strictum</i> W. Gams = <i>Cephalosporium acremonium</i> Auct. non Corda
40 Black kernel rot	<i>Lasioidiplodia theobromae</i> = <i>Botryodiplodia theobromae</i>
Borde blanco	<i>Marasmiellus</i> sp.
Brown spot (black spot, stalk rot)	<i>Physoderma maydis</i>
45 Cephalosporium kernel rot	<i>Acremonium strictum</i> = <i>Cephalosporium acremonium</i>
Charcoal rot	<i>Macrophomina phaseolina</i>

	Erkrankung	Pathogen
	Corticium ear rot	Thanatephorus cucumeris = Corticium sasakii
5	Curvularia leaf spot	Curvularia clavata, C. eragrostidis = C. maculans (teleomorph: Cochliobolus eragrostidis), Curvularia inaequalis, C. intermedia (teleomorph: Coch- liobolus intermedius), Curvularia lunata (teleomorph: Cochliobolus lunatus), Curvularia pallescens (tele- omorph: Cochliobolus pallescens), Curvularia senegalensis, C. tuber- culata (teleomorph: Cochliobolus tuberculatus)
10	Didymella leaf spot	Didymella exitalis
15	Diplodia ear rot and stalk rot	Diplodia frumenti (teleomorph: Botryosphaeria festucae)
	Diplodia ear rot, stalk rot, seed rot and seed- ling blight	Diplodia maydis = Stenocarpella maydis
20	Diplodia leaf spot or streak	Stenocarpella macrospora = Diplodia leaf macrospora

Tabelle 2: Falscher Mehltau

	Erkrankung	Pathogen
25	Brown stripe downy mildew	Sclerophthora rayssiae var. zeae
	Crazy top downy mildew	Sclerophthora macrospora = Sclerospora macrospora
30	Green ear downy mi- ldew (graminicola downy mildew)	Sclerospora graminicola
	Java downy mildew	Peronosclerospora maydis = Sclerospora maydis
35	Philippine downy mildew	Peronosclerospora philippinensis = Sclerospora philippinensis
	Sorghum downy mildew	Peronosclerospora sorghi = Sclerospora sorghi
	Spontaneum downy mildew	Peronosclerospora spontanea = Sclerospora spontanea
40	Sugarcane downy mildew	Peronosclerospora sacchari = Sclerospora sacchari
	Dry ear rot (cob, kernel and stalk rot)	Nigrospora oryzae (teleomorph: Khuskia oryzae)

Erkrankung	Pathogen
5 Ear rots, minor	Alternaria alternata = A. tenuis, Aspergillus glaucus, A. niger, Aspergillus spp., Botrytis cinerea (teleomorph: Botryotinia fuckeliana), Cunninghamella sp., Curvularia pallescens, Doratomyces stemonitis = 10 Cephalotrichum stemonitis, Fusarium culmorum, Gonatobotrys simplex, Pithomyces maydis, Rhizopus microsporus Tiegh., R. stolonifer = R. nigricans, Scopulariopsis brumptii
15 Ergot (horse's tooth)	Claviceps gigantea (anamorph: Sphacelia sp.)
Eyespot	Aureobasidium zeae = Kabatiella zeae
Fusarium ear and stalk rot	Fusarium subglutinans = F. moniliforme var. subglutinans
20 Fusarium kernel, root and stalk rot, seed rot and seedling blight	Fusarium moniliforme (teleomorph: Gibberella fujikuroi)
Fusarium stalk rot, seedling root rot	Fusarium avenaceum (teleomorph: Gibberella avenacea)
25 Gibberella ear and stalk rot (Ähren- u. Stengelfäule)	Gibberella zeae (anamorph: Fusarium graminearum)
Gray ear rot	Botryosphaeria zeae = Physalospora zeae (anamorph: Macrophoma zeae)
30 Gray leaf spot (Cercospora leaf spot)	Cercospora sorghi = C. sorghi var. maydis, C. zeae-maydis
Helminthosporium root rot	Exserohilum pedicellatum = Helminthosporium pedicellatum (teleomorph: Setosphaeria pedicellata)
35 Hormodendrum ear rot (Cladosporium rot)	Cladosporium cladosporioides = Hormodendrum cladosporioides, C. herbarum (teleomorph: Mycosphaerella tassiana)
Hyalothyridium leaf spot	Hyalothyridium maydis
Late wilt	Cephalosporium maydis

	Erkrankung	Pathogen
5	Leaf spots, minor	Alternaria alternata, Ascochyta maydis, A. tritici, A. zeicola, Bipolaris victorae = Helminthosporium victorae (teleomorph: Cochliobolus victorae), C. sativus (anamorph: Bipolaris sorokiniana = H. sorokinianum = H. sativum), Epicoccum nigrum, Exserohilum prolatum = Drechslera prolata (teleomorph: Setosphaeria prolata) Graphium penicillioides, Leptosphaeria maydis, Leptothyrium zeae, Ophiosphaerella herpotricha, (anamorph: Scolecosporella sp.), Paraphaeosphaeria michotii, Phoma sp., Septoria zeae, S. zeicola, S. zeina
10		
15		
20	Northern corn leaf blight (white blast, crown stalk rot, stripe)	Setosphaeria turcica (anamorph: Exserohilum turcicum = Helmin- thosporium turcicum)
	Northern corn leaf spot Helminthosporium ear rot (race 1)	Cochliobolus carbonum (anamorph: Bipolaris zeicola = Helminthosporium carbonum)
25	Penicillium ear rot (blue eye, blue mold)	Penicillium spp., P. chrysogenum, P. expansum, P. oxalicum
	Phaeocystostroma stalk rot and root rot	Phaeocystostroma ambiguum, = Phaeocysto- sporella zeae
	Phaeosphaeria leaf spot	Phaeosphaeria maydis = Sphaerulina maydis
30	Physalospora ear rot (Botryosphaeria ear rot)	Botryosphaeria festucae = Physalospora zeicola (anamorph: Diplodia frumenti)
	Purple leaf sheath	Hemiparasitic bacteria and fungi
	Pyrenochaeta stalk rot and root rot	Phoma terrestris = Pyrenochaeta terrestris
35	Pythium root rot	Pythium spp., P. arrhenomanes, P. graminicola
	Pythium stalk rot	Pythium aphanidermatum = P. butleri L.
	Red kernel disease (ear mold, leaf and seed rot)	Epicoccum nigrum
40	Rhizoctonia ear rot (sclerotial rot)	Rhizoctonia zeae (teleomorph: Waitea circinata)
	Rhizoctonia root rot and stalk rot	Rhizoctonia solani, Rhizoctonia zeae

Erkrankung	Pathogen
5 10 Root rots, minor	Alternaria alternata, Cercospora sorghi, Dictochaeta fertilis, Fusarium acuminatum (teleomorph: Gibberella acuminata), F. equiseti (teleomorph: G. intricans), F. oxysporum, F. pallidoroseum, F. poae, F. roseum, G. cyanogena, (anamorph: F. sulphureum), Microdochium bolleyi, Mucor sp., Periconia circinata, Phytophthora cactorum, P. drechsleri, P. nicotianae var. parasitica, Rhizopus arrhizus
15 Rostratum leaf spot (Helminthosporium leaf disease, ear and stalk rot)	Setosphaeria rostrata, (anamorph: Exserohilum rostratum = Helminthosporium rostratum)
Rust, common corn	Puccinia sorghi
Rust, southern corn	Puccinia polysora
Rust, tropical corn	Physopella pallescens, P. zeae = Angiopsora zeae
20 Sclerotium ear rot (southern blight)	Sclerotium rolfsii Sacc. (teleomorph: Athelia rolfsii)
25 Seed rot-seedling blight	Bipolaris sorokiniana, B. zeicola = Helminthosporium carbonum, Diplodia maydis, Exserohilum pedicellatum, Exserohilum turcicum = Helminthosporium turcicum, Fusarium avenaceum, F. culmorum, F. moniliforme, Gibberella zeae (anamorph: F. graminearum), Macrophoma phaseolina, Penicillium spp., Phomopsis sp., Pythium spp., Rhizoctonia solani, R. zeae, Sclerotium rolfsii, Spicaria sp.
30 Selenophoma leaf spot	Selenophoma sp.
Sheath rot	Gaeumannomyces graminis
Shuck rot	Myrothecium gramineum
35 Silage mold	Monascus purpureus, M. ruber
Smut, common	Ustilago zeae = U. maydis
Smut, false	Ustilaginoidea virens
Smut, head	Sphacelotheca reiliana = Sporisorium holcisorghi
40 Southern corn leaf blight and stalk rot	Cochliobolus heterostrophus (anamorph: Bipolaris maydis = Helminthosporium maydis)
Southern leaf spot	Stenocarpella macrospora = Diplodia macrospora

Erkrankung	Pathogen
5 Stalk rots, minor	Cercospora sorghi, Fusarium episphaeria, F. merismoides, F. oxysporum Schlechtend, F. poae, F. roseum, F. solani (teleomorph: Nectria haematococca), F. tricinctum, Mariannaea elegans, Mucor sp., Rhopoglyphus zeae, Spicaria sp.
10 Storage rots	Aspergillus spp., Penicillium spp. and other fungi
Tar spot	Phyllachora maydis
Trichoderma ear rot and root rot	Trichoderma viride = T. lignorum teleomorph: Hypocrea sp.
15 White ear rot, root and stalk rot	Stenocarpella maydis = Diplodia zeae
Yellow leaf blight	Ascochyta ischaemi, Phyllosticta maydis (teleomorph: Mycosphaerella zeae-maydis)
Zonate leaf spot	Gloeocercospora sorghi

20

Besonders bevorzugt sind

- Plasmodiophoromycota wie Plasmodiophora brassicae (Kohlhernie, clubroot of crucifers), Spongospora subterranea (powdery scab of potato tubers), Polymyxa graminis (root disease of cereals and grasses),
- Oomycota wie Bremia lactucae (Falscher Mehltau an Salat), Peronospora (Falscher Mehltau) bei snapdragon (P. antirrhini), Zwiebel (P. destructor), Spinat (P. effusa), Sojabohne (P. manhurica), Tabak ("blue mold" = Blauschimmel; P. tabacina) Alfalfa und Klee (P. trifolium), Pseudo-peronospora humuli (Falscher Mehltau an Hopfen), Plasmopara (Falscher Mehltau bei Trauben) (P. viticola) und Sonnenblume (P. halstedii), Sclerophthora macrospora (Falscher Mehltau bei Cerealien und Gäsern), Pythium (seed rot, seedling damping-off, and root rot and all types of plants, z.B. Wurzelbrand an Beta-Rübe durch P. debaryanum), Phytophthora infestans (Kraut- und Knollenfäule bei Kartoffel, Braunfäule bei Tomate etc.), Albugo spec. (white rust on cruciferous plants).
- Ascomycota wie Microdochium nivale (Schneeschnitzel an Roggen und Weizen), Fusarium graminearum, Fusarium culmorum (Ährenfäule v.a. bei Weizen), Fusarium oxysporum (Fusarium-Welke an Tomate), Blumeria graminis (Echter Mehltau an Gerste (f.sp. hordei) und Weizen (f.sp. tritici)), Erysiphe pisi (Erbsen-

## 13

- mehltau), *Nectria galligena* (Obstbaumkrebs), *Unicnula necator* (Echter Mehltau der Weinrebe), *Pseudopeziza tracheiphila* (Roter Brenner der Weinrebe), *Claviceps purpurea* (Mutterkorn an z.B. Roggen und Gräsern), *Gaeumannomyces graminis* (Schwarzbeinigkeit an Weizen, Roggen u.a. Gräsern), *Magnaporthe grisea* (rice blast disease), *Pyrenophora graminea* (Streifenkrankheit an Gerste), *Pyrenophora teres* (Netzfleckenkrankheit an Gerste), *Pyrenophora tritici-repentis* (Blattfleckenkrankheit (Blattdürre) an Weizen), *Venturia inaequalis* (Apfelschorf), *Sclerotinia sclerotium* (Weißstengeligkeit, Rapskrebs), *Pseudopeziza medicaginis* (Klappenschorf an Luzerne, Weiß- und Rotklee).
- Basidiomyceten wie *Typhula incarnata* (Typhula-Fäule an Gerste, Roggen, Weizen), *Ustilago maydis* (Beulenbrand an Mais), *Ustilago nuda* (Flugbrand an Gerste), *Ustilago tritici* (Flugbrand an Weizen, Dinkel), *Ustilago avenae* (Flugbrand an Hafer), *Rhizoctonia solani* (Wurzeltöter an Kartoffeln), *Sphacelotheca* spp. (head smut of sorghum), *Melampsora lini* (rust of flax), *Puccinia graminis* (Schwarzrost an Weizen, Gerste, Roggen, Hafer), *Puccinia recondita* (Braunrost an Weizen), *Puccinia dispersa* (Braunrost an Roggen), *Puccinia hordei* (Braunrost an Gerste), *Puccinia coronata* (Kronenrost an Hafer), *Puccinia striiformis* (Gelbrost an Weizen, Gerste, Roggen sowie zahlreichen Gräsern), *Uromyces appendiculatus* (Bohnenrost), *Sclerotium rolfsii* (root and stem rots of many plants).
- Deuteromyceten (Fungi imperfecti) wie *Septoria nodorum* (Spelzenbräune) an Weizen (*Septoria tritici*), *Pseudocercospora herpotrichoides* (Halmbruchkrankheit an Weizen, Gerste, Roggen), *Rynchosporium secalis* (Blattfleckenkrankheit an Roggen und Gerste), *Alternaria solani* (Dürrfleckenkrankheit an Kartoffel, Tomate), *Phoma betae* (Wurzelbrand an Beta-Rübe), *Cercospora beticola* (Cercospora-Blattfleckenkrankheit an Beta-Rübe), (*Alternaria brassicae* (Rapsschwärze an Raps, Kohl u.a. Kreuzblütlern), *Verticillium dahliae* (Rapswelke und -stengelfäule), *Colletotrichum lindemuthianum* (Brennfleckenkrankheit an Bohne), *Phoma lingam* - Umfallkrankheit (Schwarzbeinigkeit an Kohl; Wurzelhals- oder Stengelfäule an Raps), *Botrytis cinerea* (Grauschimmel an Weinrebe, Erdbeere, Tomate, Hopfen etc.).
- Am meisten bevorzugt sind *Phytophthora infestans* (Kraut- und Knollenfäule, Braunfäule bei Tomate etc.), *Microdochium nivale* (vormals *Fusarium nivale*; Schneeschimmel an Roggen und Weizen), *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum* (Ährenfäule an Weizen),

## 14

*Fusarium oxysporum* (*Fusarium*-Welke an Tomate), *Blumeria graminis* (Echter Mehltau an Gerste (f. sp. *hordei*) und Weizen (f. sp. *tritici*)), *Magnaporthe grisea* (rice blast disease), *Sclerotinia sclerotium* (Weißstengeligkeit, Rapskrebs), *Septoria nodorum* und *Septoria tritici* (Spelzenbräune an Weizen), *Alternaria brassicae* (Rapsschwärze an Raps, Kohl u.a. Kreuzblütlern), *Phoma lingam* (Umfallkrankheit, Schwarzbeinigkeit an Kohl; Wurzelhals- oder Stengelfäule an Raps).

## 10 2. Bakterielle Pathogene:

Beispielhaft jedoch nicht einschränkend seien die in Tabelle 3 genannten Pathogene und die mit ihnen in Zusammenhang gebrachten Erkrankungen zu nennen.

15

Tabelle 3: Bakterielle Erkrankungen

	Erkrankung	Pathogen
20	Bacterial leaf blight and stalk rot	<i>Pseudomonas avenae</i> subsp. <i>avenae</i>
	Bacterial leaf spot	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>holcicola</i>
	Bacterial stalk rot	<i>Enterobacter dissolvens</i> = <i>Erwinia dissolvens</i>
25	Schwarzbeinigkeit ("Bacterial stalk and top rot")	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i> , <i>Erwinia chrysanthemi</i> pv. <i>zeae</i>
	Bacterial stripe	<i>Pseudomonas andropogonis</i>
	Chocolate spot	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>coronafaciens</i>
30	Goss's bacterial wilt and blight (leaf freckles and wilt)	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>nebraskensis</i> = <i>Corynebacterium michiganense</i> pv. <i>andnebraskense</i>
	Holcus spot	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>
35	Purple leaf sheath	Hemiparasitic bacteria
	Seed rot-seedling blight	<i>Bacillus subtilis</i>
	Stewart's disease (bacterial wilt)	<i>Pantoea stewartii</i> = <i>Erwinia stewartii</i>
40	Corn stunt (achapparramiento, maize stunt, Mesa Central or Rio Grande maize stunt)	<i>Spiroplasma kunkelii</i>

Ganz besonders bevorzugt sind nachfolgende pathogene Bakterien:

- 45 *Corynebacterium sepedonicum* (Bakterienringfäule an Kartoffel), *Erwinia carotovora* (Schwarzbeinigkeit an Kartoffel), *Erwinia amylovora* (Feuerbrand an Birne, Apfel, Quitte), *Streptomyces*

## 15

scabies (Kartoffelschorf), *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* (Wildfeuer an Tabak), *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Fettfleckenkrankheit an Buschbohne), *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ("bacterial speck" an Tomate), *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* (Blattfleckenkrankheit an Baumwolle) und *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* (Bakterienfäule an Reis und anderen Gräsern).

## 3. Virale Pathogene:

10

"Virale Pathogene" schließt sämtliche Pflanzenviren ein wie beispielsweise Tabak- oder oder Cucumber-Mosaic Virus, Ringspot-Virus, Nekrose-Virus, Mais Dwarf-Mosaic Virus etc.

15

Beispielhaft jedoch nicht einschränkend seien die in Tabelle 4 genannten Pathogene und die mit ihnen in Zusammenhang gebrachten Erkrankungen zu nennen.

Tabelle 4: Virale Erkrankungen

20

Krankheit	Pathogen
American wheat striate (wheat striate mosaic)	American wheat striate mosaic virus (AWSMV)
25 Barley stripe mosaic	Barley stripe mosaic virus (BSMV)
Barley yellow dwarf	Barley yellow dwarf virus (BYDV)
Brome mosaic	Brome mosaic virus (BMV)
Cereal chlorotic mottle	Cereal chlorotic mottle virus (CCMV)
30 Corn chlorotic vein banding (Brazilian maize mosaic)	Corn chlorotic vein banding virus (CCVBV)
Corn lethal necrosis	Viruskomplex aus Maize chlorotic mottle virus (MCMV) und Maize dwarf mosaic virus (MDMV) A oder B oder Wheat streak mosaic virus (WSMV)
35 Cucumber mosaic	Cucumber mosaic virus (CMV)
Cynodon chlorotic streak	Cynodon chlorotic streak virus (CCSV)
Johnsongrass mosaic	Johnsongrass mosaic virus (JGMV)
40 Maize bushy stunt	Mycoplasma-like organism (MLO) associated
Maize chlorotic dwarf	Maize chlorotic dwarf virus (MCDV)
Maize chlorotic mottle	Maize chlorotic mottle virus (MCMV)
Maize dwarf mosaic	Maize dwarf mosaic virus (MDMV) strains A, D, E and F
45 Maize leaf fleck	Maize leaf fleck virus (MLFV)
Maize line	Maize line virus (MLV)

	Krankheit	Pathogen
	Maize mosaic (corn leaf stripe, enanismo rayado)	Maize mosaic virus (MMV)
5	Maize mottle and chlorotic stunt	Maize mottle and chlorotic stunt virus
	Maize pellucid ringspot	Maize pellucid ringspot virus (MPRV)
	Maize raya gruesa	Maize raya gruesa virus (MRGV)
10	maize rayado fino (fine striping disease)	Maize rayado fino virus (MRFV)
	Maize red leaf and red stripe	Mollicute
	Maize red stripe	Maize red stripe virus (MRSV)
	Maize ring mottle	Maize ring mottle virus (MRMV)
15	Maize rio IV	Maize rio cuarto virus (MRCV)
	Maize rough dwarf (nanismo ruvido)	Maize rough dwarf virus (MRDV) (Cereal tillering disease virus)
	Maize sterile stunt	Maize sterile stunt virus (strains of barley yellow striate virus)
20	Maize streak	Maize streak virus (MSV)
	Maize stripe (maize chlorotic stripe, maize hoja blanca)	Maize stripe virus
	Maize stunting	Maize stunting virus
25	Maize tassel abortion	Maize tassel abortion virus (MTAV)
	Maize vein enation	Maize vein enation virus (MVEV)
	Maize wallaby ear	Maize wallaby ear virus (MWEV)
	Maize white leaf	Maize white leaf virus
30	Maize white line mosaic	Maize white line mosaic virus (MWLMV)
	Millet red leaf	Millet red leaf virus (MRLV)
	Northern cereal mosaic	Northern cereal mosaic virus (NCMV)
	Oat pseudorosette (zakuklivanie)	Oat pseudorosette virus
35	Oat sterile dwarf	Oat sterile dwarf virus (OSDV)
	Rice black-streaked dwarf	Rice black-streaked dwarf virus (RBSDV)
	Rice stripe	Rice stripe virus (RSV)
40	Sorghum mosaic	Sorghum mosaic virus (SrMV) (auch: sugarcane mosaic virus (SCMV) Stämme H, I and M)
	Sugarcane Fiji disease	Sugarcane Fiji disease virus (FDV)
45	Sugarcane mosaic	Sugarcane mosaic virus (SCMV) strains A, B, D, E, SC, BC, Sabi and MB (formerly MDMV-B)
	Wheat spot mosaic	Wheat spot mosaic virus (WSMV)

## 4. Tierische Schädlinge

## 4.1 Insekten Pathogene:

- 5 Beispielhaft jedoch nicht einschränkend seien Insekten wie beispielsweise Käfer, Raupen, Läuse oder Milben zu nennen. Bevorzugt sind Insekten der Gattungen Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Lepidoptera, Mallophaga, Homoptera, Hemiptera, Orthoptera, Thysanoptera. Dermaptera, Isoptera, Anoplura, Siphonaptera, Trichoptera, etc.. Besonders bevorzugt sind
- 10 Coleoptera and Lepidoptera Insekten, wie beispielsweise den Maiszünsler (European Corn Borer (ECB)), *Diabrotica barberi* ("northern corn rootworm"), *Diabrotica undecim-punctata* ("southern corn rootworm"), *Diabrotica virgifera*
- 15 ("Western corn rootworm"), *Agrotis ipsilon* ("black cutworm"), *Crymodes devastator* ("glassy cutworm"), *Feltia ducens* ("dingy cutworm"), *Agrotis gladiaria* ("claybacked cutworm"), *Melanotus* spp., *Aeolus mellillus* ("wireworm"), *Aeolus mancus* ("wheat wireworm"), *Horistonotus uhlerii* ("sand wireworm"),
- 20 *Sphenophorus maidis* ("maize billbug"), *Sphenophorus zeae* ("timothy billbug"), *Sphenophorus parvulus* ("bluegrass billbug"), *Sphenophorus callosus* ("southern corn billbug"), *Phyllogphaga* spp. ("white grubs"), *Anuraphis maidiradicis* ("corn root aphid"), *Delia platura* ("seedcorn maggot"),
- 25 *Colaspis brunnea* ("grape colaspis"), *Stenolophus lecontei* ("seedcorn beetle") und *Clivinia impressifrons* ("lender seedcorn beetle").

- 30 Ferner sind zu nennen: Das Getreidehähnchen (*Oulema melanopus*), die Fritfliege (*Oscinella frit*), Drahtwürmer (*Agrotis lineatus*) und Blattläuse (wie z.B. Haferblattlaus *Rhopalosiphum padi*, Große Getreideblattlaus *Sitobion avenae*).

## 4.2 Nematoden:

35

Beispielhaft jedoch nicht einschränkend seien die in Tabelle 6 genannten Pathogene und die mit ihnen in Zusammenhang gebrachten Erkrankungen zu nennen.

40

Tabelle 6: Parasitäre Nematoden

Schädigung	Pathogene Nematode
Awl	<i>Dolichodorus</i> spp., <i>D. heterocephalus</i>
45 Stengel- oder Stockälchen, Rübenkopfälchen ("Bulb and stem"; Europe)	<i>Ditylenchus dipsaci</i>
Burrowing	<i>Radopholus similis</i>

	Schädigung	Pathogene Nematode
	Haferzystenälchen ("Cyst")	Heterodera avenae, H. zeae, Punctodera chalcensis
5	Dagger	Xiphinema spp., X. americanum, X. mediterraneum
	False root-knot	Nacobbus dorsalis
	Lance, Columbia	Hoplolaimus columbus
	Lance	Hoplolaimus spp., H. galeatus
10	Lesion	Pratylenchus spp., P. brachyurus, P. crenatus, P. hexincisus, P. neglectus, P. penetrans, P. scribneri, P. thornei, P. zeae
	Needle	Longidorus spp., L. breviannulatus
15	Ring	Criconemella spp., C. ornata
	Wurzelgallenälchen ("Root-knot")	Meloidogyne spp., M. chitwoodi, M. incognita, M. javanica
	Spiral	Helicotylenchus spp.
	Sting	Belonolaimus spp., B. longicaudatus
20	Stubby-root	Paratrichodorus spp., P. christiei, P. minor, Quinisulcius acutus, Trichodorus spp.
	Stunt	Tylenchorhynchus dubius

25

Ganz besonders bevorzugt sind Globodera rostochiensis und G. pallida (Zystenälchen an Kartoffel, Tomate u.a. Nachtschattengewächsen), Heterodera schachtii (Rübenzystenälchen an Zucker- und Futterrübe, Raps, Kohl etc.), Heterodera avenae (Hafer-

30 zystenälchen an Hafer u.a. Getreidearten), Ditylenchus dipsaci (Stengel- oder Stockälchen, Rübenkopfälchen an Roggen, Hafer, Mais, Klee, Tabak, Rübe), Anguina tritici (Weizenälchen, Radekrankheit an Weizen (Dinkel, Roggen), Meloidogyne hapla (Wurzelgallenälchen an Möhre, Gurke, Salat, Tomate, Kartoffel, Zucker-  
35 rübe, Luzerne).

Als für die einzelnen Sorten bevorzugte Pilz- oder Virus-Pathogene sind beispielsweise zu nennen:

40 1. Gerste:

Pilz-, bakterielle und virale Pathogene: Puccinia graminis f.sp. hordei (barley stem rust), Blumeria (Erysiphe) graminis f.sp. hordei (Barley Powdery Mildew), barley yellow dwarf virus (BYDV),

45

## 19

Pathogene Insekten / Nematoden: *Ostrinia nubilalis* (European corn borer); *Agrotis ipsilon* (black cutworm); *Schizaphis graminum* (greenbug); *Blissus leucopterus leucopterus* (chinch bug); *Acrosternum hilare* (green stink bug); *Euschistus servus* (brown stink bug); *Deliaplatura* (seedcorn maggot); *Mayetiola destructor* (Hessian fly); *Petrobia latens* (brown wheat mite).

## 2. Sojabohne:

Pilz-, bakterielle oder virale Pathogene: *Phytophthora megasperma* fsp. *glycinea*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* (*Phomopsis sojae*), *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*, *Sclerotium rolfsii*, *Cercospora kikuchii*, *Cercospora sojae*, *Peronospora manshurica*, *Colletotrichum dematium* (*Colletotrichum truncatum*), *Corynespora cassiicola*, *Septoria glycines*, *Phyllosticta sojicola*, *Alternaria alternata*, *Pseudomonas syringae* p.v. *glycinea*, *Xanthomonas campestris* p.v. *phaseoli*, *Microsphaera diffusa*, *Fusarium semitectum*, *Phialophora gregata*, Sojabohnen Mosaikvirus, *Glomerella glycines*, Tobacco Ring spot virus, Tobacco Streak virus, *Phakopsorapachyrhizi*, *Pythium aphanidermatum*, *Pythium ultimum*, *Pythium debaryanum*, Tomato spotted wilt virus, *Heterodera glycines* *Fusarium solani*.

Pathogene Insekten / Nematoden: *Pseudoplusia includens* (soybean looper); *Anticarsia gemmatilis* (velvetbean caterpillar); *Plathypena scabra* (green cloverworm); *Ostrinia nubilalis* (European corn borer); *Agrotis ipsilon* (black cutworm); *Spodoptera exigua* (beet armyworm); *Heliothis virescens* (cotton budworm); *Helicoverpa zea* (cotton bollworm); *Epilachna varivestis* (Mexican bean beetle); *Myzus persicae* (green peach aphid); *Empoasca fabae* (potato leaf hopper); *Acrosternum hilare* (green stink bug); *Melanoplus femurrubrum* (redlegged grasshopper); *Melanoplus differentialis* (differential grasshopper); *Hylemya platura* (seedcorn maggot); *Sericothrips variabilis* (soybean thrips); *Thrips tabaci* (onion thrips); *Tetranychus turkestani* (strawberry spider mite); *Tetranychus urticae* (twospotted spider mite);

## 3. Canola:

Pilz-, bakterielle oder virale Pathogene: *Albugo candida*, *Alternaria brassicae*, *Leptosphaeria maculans*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Mycosphaerella brassicicola*, *Pythium ultimum*, *Peronospora parasitica*, *Fusarium roseum*, *Alternaria alternata*.

## 4. Alfalfa:

- Pilz,, bakterielle oder virale Pathogene: *Clavibacter michiganese* subsp. *insidiosum*, *Pythium ultimum*, *Pythium irregulare*, *Pythium splendens*, *Pythium debaryanum*, *Pythium aphanidermatum*, *Phytophthora megasperma*, *Peronospora trifoliorum*, *Phoma medicaginis* var. *medicaginis*, *Cercospora medicaginis*, *Pseudopeziza medicaginis*, *Leptotrochila medicaginis*, *Fusarium*, *Xanthomonas campestris* p.v. *alfalfae*, *Aphanomyces euteiches*, *Stemphylium herbarum*, *Stemphylium alfalfae*.

## 5. Weizen:

- Pilz-, bakterielle oder virale Pathogene: *Pseudomonas syringae* p.v. *atrofaciens*, *Urocystis agropyri*, *Xanthomonas campestris* p.v. *translucens*, *Pseudomonas syringae* p.v. *syringae*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium culmorum*, *Ustilago tritici*, *Ascochyta tritici*, *Cephalosporium gramineum*, *Collotetrichum graminicola*, *Erysiphe graminis* f.sp. *tritici*, *Puccinia graminis* f.sp. *tritici*, *Puccinia recondita* f.sp. *tritici*, *Puccinia striiformis*, *Pyrenophora tritici-repentis*, *Septoria nodorum*, *Septoria tritici*, *Septoria avenae*, *Pseudocercospora herpotrichoides*, *Rhizoctonia solani*, *Rhizoctonia cerealis*, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Pythium aphanidermatum*, *Pythium arrhenomanes*, *Pythium ultimum*, *Bipolaris sorokiniana*, Barley Yellow Dwarf Virus, Brome Mosaic Virus, Soil Borne Wheat Mosaic Virus, Wheat Streak Mosaic Virus, Wheat Spindle Streak Virus, American Wheat Striate Virus, *Claviceps purpurea*, *Tilletia tritici*, *Tilletia laevis*, *Ustilago tritici*, *Tilletia indica*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium arrhenomanes*, *Pythium graminicola*, *Pythium aphanidermatum*, High Plains Virus, European wheat striate virus, *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* (Wheat stem rust), *Blumeria* (*Erysiphe*) *graminis* f.sp. *tritici* (Wheat Powdery Mildew)
- Pathogene Insekten / Nematoden: *Pseudaletia unipunctata* (army worm); *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm); *Elasmopalpus lignosellus* (lesser cornstalk borer); *Agrotis orthogonia* (western cutworm); *Elasmopalpus lignosellus* (lesser cornstalk borer); *Oulema melanopus* (cereal leaf beetle); *Hypera punctata* (clover leaf weevil); *Diabrotica undecimpunctata howardi* (southern corn rootworm); Russian wheat aphid; *Schizaphis graminum* (greenbug); *Macrosiphum avenae* (English grain aphid); *Melanoplus femurrubrum* (redlegged grasshopper);

## 21

Melanoplus differentialis (differential grasshopper);  
Melanoplus sanguinipes (migratory grasshopper); Mayetiola  
destructor (Hessian fly); Sitodiplosis mosellana (wheat  
5 midge); Meromyza americana (wheat stem maggot); Hylemya  
coarctata (wheat bulb fly); Frankliniella fusca (tobacco  
thrips); Cephus cinctus (wheat stem sawfly); Aceria tulipae  
(wheat curl mite);

## 6. Sonnenblume:

10

Pilz-, bakterielle oder virale Pathogene: Plasmophora  
halstedii, Sclerotinia sclerotiorum, Aster Yellows, Septoria  
helianthi, Phomopsis helianthi, Alternaria helianthi, Alter-  
naria zinniae, Botrytis cinerea, Phoma macdonaldii, Macro-  
15 phomina phaseolina, Erysiphe cichoracearum, Rhizopus oryzae,  
Rhizopus arrhizus, Rhizopus stolonifer, Puccinia helianthi,  
Verticillium dahliae, Erwinia carotovorum p.v. Carotovora,  
Cephalosporium acremonium, Phytophthora cryptogea, Albugo  
tragopogonis.

20

Pathogene Insekten / Nematoden: Suleima helianthana (sun-  
flower bud moth); Homoeosoma electellum (sunflower moth);  
zygogramma exclamationis (sunflower beetle); Bothyrus  
gibbosus (carrot beetle); Neolasioptera murtfeldtiana  
25 (sunflower seed midge);

## 7. Mais:

30

Pilz-, bakterielle oder virale Pathogene: Fusarium monili-  
forme var. subglutinans, Erwinia stewartii, Fusarium monili-  
forme, Gibberella zeae (Fusarium graminearum), Stenocarpella  
maydi (Diplodia maydis), Pythium irregulare, Pythium debarya-  
num, Pythium graminicola, Pythium splendens, Pythium ultimum,  
Pythium aphanidermatum, Aspergillus flavus, Bipolaris maydis  
35 0, T (Cochliobolus heterostrophus), Helminthosporium carbonum  
I, II & III (Cochliobolus carbonum), Exserohilum turcicum I,  
II & III, Helminthosporium pedicellatum, Physoderma maydis,  
Phyllosticta maydis, Kabatiella maydis, Cercospora sorghi,  
Ustilago maydis, Puccinia sorghi, Puccinia polysora, Macro-  
40 phomina phaseolina, Penicillium oxalicum, Nigrospora oryzae,  
Cladosporium herbarum, Curvularia lunata, Curvularia inae-  
qualis, Curvularia pallescens, Clavibacter michiganese subsp.  
nebraskense, Trichoderma viride, Maize Dwarf Mosaic Virus A  
& B, Wheat Streak Mosaic Virus, Maize Chlorotic Dwarf Virus,  
45 Claviceps sorghi, Pseudonomas avenae, Erwinia chrysanthemi  
p.v. Zea, Erwinia carotovora, Cornstunt Spiroplasma, Diplodia  
macrospora, Sclerophthora macrospora, Peronosclerospora

sorghi, *Peronosclerospora philippinensis*, *Peronosclerospora maydis*, *Peronosclerospora sacchari*, *Spacelotheca reiliana*, *Physopella zeae*, *Cephalosporium maydis*, *Cephalosporium acremonium*, Maize Chlorotic Mottle Virus, High Plains Virus, Maize Mosaic Virus, Maize Rayado Fino Virus, Maize Streak Virus (MSV, Maisstrichel-Virus), Maize Stripe Virus, Maize Rough Dwarf Virus.

Pathogene Insekten / Nematoden: *Ostrinia nubilalis* (European corn borer); *Agrotis ipsilon* (black cutworm); *Helicoverpa zea* (corn earworm); *Spodoptera frugiperda*. (fall armyworm); *Diatraea grandiosella* (southwestern corn borer); *Elasmopalpus lignosellus* (lesser cornstalk borer); *Diatraea saccharalis* (surgarcane borer); *Diabrotica virgifera* (western corn rootworm); *Diabrotica longicornis barberi* (northern corn rootworm); *Diabrotica undecimpunctata howardi* (southern corn rootworm); *Melanotus* spp. (wireworms); *Cyclocephala borealis* (northern masked chafer; white grub); *Cyclocephala immaculata* (southern masked chafer; white grub); *Popillia japonica* (Japanese beetle); *Chaetocnema pulicaria* (corn flea beetle); *Sphenophorus maidis* (maize billbug); *Rhopalosiphum maidis* (corn leaf aphid); *Anuraphis maidiradicis* (corn root aphid); *Blissus leucopterus leucopterus* (chinch bug); *Melanoplus femurrubrum* (redlegged grasshopper); *Melanoplus sanguinipes* (migratory grasshopper); *Hylemya platura* (seedcorn maggot); *Agromyza parvicornis* (corn blot leafminer); *Anaphothrips obscurus* (grass thrips); *Solenopsis milesta* (thief ant); *Tetranychus urticae* (twospotted spider mite).

30 8. Sorghum:

Pilz-, bakterielle oder virale Pathogene: *Exserohilum turcicum*, *Colletotrichum graminicola* (*Glomerella graminicola*), *Cercospora sorghi*, *Gloeocercospora sorghi*, *Ascochyta sorghina*, *Pseudomonas syringae* p.v. *syringae*, *Xanthomonas campestris* p.v. *holcicola*, *Pseudomonas andropogonis*, *Puccinia purpurea*, *Macrophoma phaseolina*, *Perconia circinata*, *Fusarium moniliforme*, *Alternaria alternate*, *Bipolaris sorghicola*, *Helminthosporium sorghicola*, *Curvularia lunata*, *Phoma insidiosa*, *Pseudomonas avenae* (*Pseudomonas alboprecipitans*), *Ramulispora sorghi*, *Ramulispora sorghicola*, *Phyllachara sacchari*, *Sporisorium reilianum* (*Sphacelotheca reiliana*), *Sphacelotheca cruenta*, *Sporisorium sorghi*, Sugarcane mosaic H, Maize Dwarf Mosaic Virus A & B, *Claviceps sorghi*, *Rhizoctonia solani*, *Acremonium strictum*, *Sclerophthora macrospora*, *Peronosclerospora sorghi*, *Peronosclerospora philippinensis*,

*Sclerospora graminicola*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum*, *Pythium arrhenomanes*, *Pythium graminicola*.

5 Pathogene Insekten / Nematoden: *Chilo partellus* (sorghum borer); *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm); *Helicoverpa zea* (corn ear-worm); *Elasmopalpus lignosellus* (lesser corn-stalk borer); *Feltia subterranea* (granulate cutworm); *Phyllophaga crinita* (white grub); *Eleodes*, *Conoderus* und *Aeolus* spp. (wireworm); *Oulema melanopus* (cereal leaf beetle);  
10 *Chaetocnema pulicaria* (corn flea beetle); *Sphenophorus maidis* (maize billbug); *Rhopalosiphum maidis* (corn leaf aphid); *Siphaflava* (yellow sugarcane aphid); *Blissus leucopterus leucopterus* (chinch bug); *Contarinia sorghicola* (sorghum-midge); *Tetranychus cinnabarinus* (carmine spider mite);  
15 *Tetranychus urticae* (two spotted spider mite).

9. Baumwolle:

20 Pathogene Insekten / Nematoden: *Heliothis virescens* (cotton budworm); *Helicoverpa zea* (cotton bollworm); *Spodoptera exigua* (beet armyworm); *Pectinophora gossypiella* (pink bollworm); *Anthonomus grandis grandis* (boll weevil); *Aphis gossypii* (cotton aphid); *Pseudatomoscelis seriatus* (cotton fleahopper); *Trialeurodes abutilonea* (bandedwinged whitefly);  
25 *Lygus lineolaris* (tarnished plant bug); *Melanoplus femurrubrum* (redlegged grasshopper); *Melanoplus differentialis* (differential grasshopper); *Thrips tabaci* (onion thrips); *Frankliniella fusca* (tobacco thrips); *Tetranychus cinnabarinus* (carmine spider mite); *Tetranychus urticae* (two-spotted spider mite);  
30

10. Reis:

35 Pathogene Insekten / Nematoden: *Diatraea saccharalis* (sugarcane borer); *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm); *Helicoverpa zea* (corn earworm); *Colaspis brunnea* (grape colaspis); *Lissorhoptrus oryzophilus* (rice water weevil); *Sitophilus oryzae* (rice weevil); *Nephotettix nigropictus* (rice leafhopper); *Blissus leucopterus leucopterus* (chinch bug); *Acrosternum hilare* (green stink bug);  
40

11. Raps:

45 Pathogene Insekten / Nematoden: *Brevicoryne brassicae* (cabbage aphid); *Phyllotreta cruciferae* (Flea beetle); *Mamestra conjugata* (Bertha armyworm); *Plutella xylostella* (Diamond-back moth); *Delia* spp. (Root maggots).

## 24

"NADPH-Oxidase" meint im Rahmen der Erfindung all solche Enzyme, die als wesentliche Eigenschaft befähigt sind mittels eines Einzelelektronentransfers molekularen Sauerstoff ( $O_2$ ) zu Superoxid ( $O_2^-$ ) umzusetzen. Bevorzugt sind die Enzyme die durch die EC-Klasse E.C.1.23.45.3 beschrieben werden. Dabei kann die NADPH-Oxidase aus einem oder mehr Polypeptiden bestehen, die gleich oder unterschiedlich sein können.

Bevorzugt ist die NADPH-Oxidase ein Flavocytochromprotein und umfasst als prosthetische Gruppen ein Cytochrom b und/oder eine FAD Einheit. Die NADPH-Oxidase kann aus einem  $\alpha\beta$ 1 Heterodimer bestehen, wobei die  $\beta$  Untereinheit die funktionelle Untereinheit des Flavocytochroms darstellen und als Glykoprotein die Elektronentransportkomponenten umfassen kann (eine hydrophile, zytosolische, C-terminale Domäne, welche NADPH und FAD enthält, sowie 4 bis 6 N-terminale, putative Transmembrane- $\alpha$ -Helixes, welche zwei Histidin-komplexierte prosthetische Haem-Gruppen enthält). Die  $\alpha$ -Untereinheit kann eine C-terminale, Prolin-reiche Sequenz umfassen, welche potentielle zytosolische, aktivierende Faktoren der NADPH-Oxidase zu binden vermag. Durch die Bindung der zytosolischen phox Proteine (z.B. p47-phox, p67-phox, p40-phox) und p21rac - ein GTP-bindendes Protein - kann Aktivierung erfolgen.

Dem Fachmann sind zahlreiche NADPH-Oxidasen aus pflanzlichen Organismen bekannt (u.a. Torres MA et al. (1998) Plant J 14: 365-370). Beispielhaft jedoch nicht einschränkend seien die Sequenzen mit nachfolgenden GenBnk Acc.-No. zu nennen: AJ251717 (*Hordeum vulgare*), AP003560 (*Oryza sativa* var. *japonica*), AJ320505 (*Nicotiana tabacum*), AB050660 (*Solanum tuberosum*), AF088276 (*Lycopersicon esculentum*), AB008111 (*Arabidopsis thaliana*; Atrboh F), AF055357 (*Arabidopsis thaliana*; RbohD), AJ309006 (*Nicotiana tabacum*; rboh), AP003271 (*Oryza sativa* cv. *japonica*), AF055355 (*Arabidopsis thaliana*; RbohC), AF055353 (*Arabidopsis thaliana*; RbohA). Insbesondere bevorzugt sind die NADPH-OXIDASEN, die eine Sequenz gemäß SEQ ID: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 oder 22 umfassen.

Die zu den im Rahmen dieser Erfindung offenbarten NADPH-Oxidase Sequenzen homologen Sequenzen aus anderen Pflanzen können z.B. durch Datenbanksuche oder Durchmustern von Gen-Banken - unter Verwendung der NADPH-Oxidase Sequenzen als Suchsequenz bzw. Sonde - leicht aufgefunden werden. Beispielhaft seien dabei Sequenzen mit nachfolgenden GenBnk Acc.-No. zu nennen: CAC51517.1, AJ251717, T03973, BAB68079.1, AP003560, T02024, CAC87256.1, AJ320505, BAB70750.1, AB050660, AF088276\_1, NP\_564821.1, NM\_105079, T00265 AC007764\_16, NP\_192862.1, NM\_117194, AF147783\_1, AAM28891.1, AF506374, CAC84140.1, AJ309006, T51804, NP\_199602.1,

## 25

NM\_124165, BAB89740.1, AP003271, AAC39477.1, AF055355, NP\_199919.1, NM\_124485, AAC39475.1, AF055353, NP\_196356.1, NM\_120821, NP\_194239.1, NM\_118641, BAB08369.1, AB015475, AAC39478.1, AF055356, AC069143\_9, NP\_173357.1, NM\_101781, 5 NP\_172383.1, NM\_100780, AAB70398.1, AC000106, AAC39476.1, AF055354, BAB70751.1, AB050661, BAB63664.1, AP003275, AAD24966.1, AF109150.

Besonders bevorzugt umfasst die Polypeptidsequenz der NADPH-  
10 Oxidase mindestens ein Sequenzmotiv ausgewählt aus der Gruppe von Sequenzmotiven bestehend aus

- i) AL(K/R)GL(K/R)
  - ii) DK(N/D)XDG(R/K)(I/L/V)(T/N)E
  - 15 iii) LSASAN
  - iv) IMEELDP
  - v) K(F/L)NMA(I/L)(I/V)LXPVCRN
  - vi) (E/Q)WHPFSIT
  - vii) S(A/S)PXDD(Q/Y)(L/I)S(I/V)H(V/I/L)R
  - 20 viii) DGPYG(S/A)PAGDY
  - ix) L(I/V)GLGIGATP
  - x) FYWVTREQGSF
  - xi) GVFYCG
- 25 Ganz besonders bevorzugt enthält die Peptidsequenz mindestens 2 oder 3, ganz besonders bevorzugt mindestens 4 oder 5, am meisten bevorzugt alle der Sequenzmotive ausgewählt aus der Gruppe der Sequenzmotive i), ii), iii), iv), v), vi) vii), viii), ix) x) und xi). (Angaben in Klammern meinen alternativ mögliche Amino-  
30 säuren an dieser Position; z.B. mein (V/I), dass an dieser Position Valin oder Isoleucin möglich ist).

NADPH-Oxidase kann aber auch jede andere Einheit eines NADPH-Oxidase Enzymkomplexes meinen der wesentlich für Aktivität der  
35 NADPH-Oxidase ist.

"Proteinmenge" meint die Menge eines NADPH-Oxidase-Polypeptides in einem Organismus, einem Gewebe, einer Zelle oder einem Zellkompartiment. "Verminderung" der Proteinmenge meint die mengen-  
40 mäßige Verminderung der Menge einer NADPH-Oxidase in einem Organismus, einem Gewebe, einer Zelle oder einem Zellkompartiment - beispielsweise durch eines der unten beschriebenen Verfahren - im Vergleich zu dem Wildtyp derselben Gattung und Art auf den dieses Verfahren nicht angewendet wurde, unter ansonst gleichen  
45 Rahmenbedingungen (wie beispielsweise Kulturbedingungen, Alter der Pflanzen etc.). Der Verminderung beträgt dabei mindestens 10 %, bevorzugt mindestens 10 % oder mindestens 20 %, besonders

bevorzugt um mindestens 40 % oder 60 %, ganz besonders bevorzugt um mindestens 70 % oder 80 %, am meisten bevorzugt um mindestens 90 % oder 95 %.

- 5 "Aktivität" meint die Fähigkeit einer NADPH-Oxidase molekularen Sauerstoff ( $O_2$ ) zu Superoxid ( $O_2^-$ ) umzusetzen. "Verminderung" der Aktivität meint die Verminderung der Gesamt-Aktivität eines NADPH-Oxidase-Proteins in einem Organismus, einem Gewebe, einer Zelle oder einem Zellkompartiment - beispielsweise durch eines
- 10 der unten beschriebenen Verfahren - im Vergleich zu dem Wildtyp derselben Gattung und Art auf den dieses Verfahren nicht angewendet wurde, unter ansonst gleichen Rahmenbedingungen (wie beispielsweise Kulturbedingungen, Alter der Pflanzen etc.). Der Verminderung beträgt dabei mindestens 10 %, bevorzugt mindestens
- 15 10 % oder mindestens 20 %, besonders bevorzugt um mindestens 40 % oder 60 %, ganz besonders bevorzugt um mindestens 70 % oder 80 %, am meisten bevorzugt um mindestens 90 % oder 95 %.

- "Funktion" meint bevorzugt die Substratbindekapazität einer
- 20 NADPH-Oxidase in einem Organismus, einem Gewebe, einer Zelle oder einem Zellkompartiment. Als Substrate kommen niedermolekulare Verbindungen wie NADPH oder FAD aber auch die Proteininteraktionspartner einer NADPH-Oxidase in Frage.

- 25 "Verminderung" der Funktion meint beispielsweise die mengenmäßige Verminderung der Bindekapazität oder Bindestärke einer NADPH-Oxidase zu mindestens einem Substrat in einem Organismus, einem Gewebe, einer Zelle oder einem Zellkompartiment - beispielsweise durch eines der unten beschriebenen Verfahren - im Vergleich zu
- 30 dem Wildtyp derselben Gattung und Art auf den dieses Verfahren nicht angewendet wurde, unter ansonst gleichen Rahmenbedingungen (wie beispielsweise Kulturbedingungen, Alter der Pflanzen etc.). Unter Verminderung ist auch die Veränderung der Substratspezifität zu verstehen, wie sie beispielsweise durch den  $k_{cat}/K_m$ -Wert
- 35 ausgedrückt werden kann. Der Verminderung beträgt dabei mindestens 10 %, bevorzugt mindestens 10 % oder mindestens 20 %, besonders bevorzugt um mindestens 40 % oder 60 %, ganz besonders bevorzugt um mindestens 70 % oder 80 %, am meisten bevorzugt um mindestens 90 % oder 95 %. Bindepartner für NADPH-Oxidase können
- 40 beispielsweise durch das Hefe-2-Hybridssystem in der dem Fachmann geläufigen Weise identifiziert werden.

- Verfahren zur Bestimmung der Proteinmenge, der Aktivität von NADPH Oxidasen oder der Substratbindekapazität sind dem Fachmann
- 45 bekannt. Beispielsweise kann die NADPH abhängige, DPI-inhibierbare  $O_2^-$  oder  $H_2O_2$  Produktion (z.B. über Nitro-Blau-Tetrazolium [NBT] oder Cytochrom c Reduktion) gemessen werden. Die Protein-

menge kann beispielsweise immunologisch unter Verwendung entsprechender Antikörper bestimmt werden. Entsprechende Verfahren sind beschrieben (Yu L et al. (1999) Blood 94(7):2497-504; Doke N (1983a) Physiol Plant Pathol 23:345-357; Levine A et al. (1994) Cell 79:583-593; Tenhaken R et al. (1995) Proc Nat Acad Sci USA 92: 4158-4163; Sagi M & Fluhr R. (2001) Plant Physiol 126(3):1281-90; Hückelhoven R & Kogel KH (1998) Mol Plant Microbe Interact 11:292-300; so wie in den vorgenannten Artikeln zitierten Referenzen).

10

"Funktionelle Äquivalente" eines NADPH-Oxidase-Proteins meint bevorzugt solche Sequenzen, die von einer NADPH-Oxidase umfassend eine Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 oder 22 abgeleitet oder zu dieser homolog sind und

15 die gleichen wesentlichen Eigenschaften aufweisen.

Dabei kann die Effizienz der Pathogenresistenz sowohl nach unten als auch nach oben im Vergleich zu einem Wert erhalten bei Verminderung einer der NADPH-Oxidasen umfassend eine Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 oder

20 22 abweichen. Bevorzugt sind solche funktionelle Äquivalente, bei denen sich die Effizienz der Pathogenresistenz - gemessen beispielsweise an der Penetrationseffizienz eines Pathogens (Haustoriumbildung) - um nicht mehr als 50 %, bevorzugt 25 %,

25 besonders bevorzugt 10 % von einem Vergleichswert erhalten unter Verminderung einer NADPH-Oxidase umfassend eine Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 oder 22 unterscheidet. Besonders bevorzugt sind solche Sequenzen, bei deren Verminderung die Effizienz der Pathogenresistenz quantitativ um mehr als 50 %, bevorzugt 100 %, besonders bevorzugt 500 %, ganz besonders bevorzugt 1000 % einen Vergleichswert erhalten bei Verminderung einer der NADPH-Oxidasen umfassend eine Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 oder 22 übersteigt.

35

Der Vergleich wird bevorzugt unter analogen Bedingungen durchgeführt. "Analoge Bedingungen" bedeutet, dass alle Rahmenbedingungen wie beispielsweise Kultur- oder Zuchtbedingungen, Assaybedingungen (wie Puffer, Temperatur, Substrate, Pathogenkonzentration etc.) zwischen den zu vergleichenden Versuchen identisch gehalten werden und die Ansätze sich allein durch die Sequenz der zu vergleichenden NADPH-Oxidasen, ihrem Ursprungsorganismus und gegebenenfalls dem Pathogen unterscheiden. Bei Wahl des Pathogens ist für den Vergleich jeweils das Pathogen zu wählen, das dem jeweils anderen - unter Berücksichtigung der Artspezifität - am nächsten kommt.

45

"Funktionelle Äquivalente" meint insbesondere natürliche oder künstliche Mutationen der NADPH-Oxidasen umfassend eine Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 oder 22 sowie homologe Polypeptide aus anderen Pflanzen,

- 5 welche weiterhin im wesentlichen gleiche Eigenschaften aufweisen. Bevorzugt sind homologe Polypeptide aus oben beschriebenen bevorzugten Pflanzen. Die zu den im Rahmen dieser Erfindung offenbarten NADPH-Oxidase Sequenzen homologen Sequenzen aus anderen Pflanzen (beispielsweise *Arabidopsis thaliana*) können z.B. durch
- 10 Datenbanksuche oder Durchmustern von Gen-Banken - unter Verwendung der NADPH-Oxidase-Sequenzen als Suchsequenz bzw. Sonde - leicht aufgefunden werden. Entsprechende Sequenzen sind oben mit GenBank Acc-No. beispielhaft aufgeführt.
- 15 Mutationen umfassen Substitutionen, Additionen, Deletionen, Inversion oder Insertionen eines oder mehrerer Aminosäurereste. Somit werden beispielsweise auch solche Polypeptide durch die vorliegende Erfindung mit umfasst, welche man durch Modifikation eines Polypeptides umfassend eine Polypeptidsequenz gemäß
- 20 SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 oder 22 erhält.

Unter Homologie zwischen zwei Nukleinsäuresequenzen wird die Identität der Nukleinsäuresequenz über die jeweils gesamte Sequenzlänge verstanden, die durch Vergleich mit Hilfe des

- 25 Programmalgorithmus GAP (Wisconsin Package Version 10.0, University of Wisconsin, Genetics Computer Group (GCG), Madison, USA; Altschul et al. (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389ff) unter Einstellung folgender Parameter berechnet wird:

30 Gap Weight: 50

Length Weight: 3

Average Match: 10

Average Mismatch: 0

Beispielhaft wird unter einer Sequenz, die eine Homologie

- 35 von mindestens 80 % auf Nukleinsäurebasis mit der Sequenz SEQ ID NO: 1 aufweist, eine Sequenz verstanden, die bei einem Vergleich mit der Sequenz SEQ ID NO: 1 nach obigem Programmalgorithmus mit obigem Parametersatz eine Homologie von mindestens 80 % aufweist.

40

Unter Homologie zwischen zwei Polypeptiden wird die Identität der Aminosäuresequenz über die jeweils gesamte Sequenzlänge verstanden, die durch Vergleich mit Hilfe des Programmalgorithmus GAP (Wisconsin Package Version 10.0, University of Wisconsin,

- 45 Genetics Computer Group (GCG), Madison, USA) unter Einstellung folgender Parameter berechnet wird:

29

Gap Weight: 8

Length Weight: 2

Average Match: 2,912

Average Mismatch:-2,003

5 Beispielhaft wird unter einer Sequenz, die eine Homologie von mindestens 80 % auf Proteinbasis mit der Sequenz SEQ ID NO: 2 aufweist, eine Sequenz verstanden, die bei einem Vergleich mit der Sequenz SEQ ID NO: 2 nach obigem Programmalgorithmus mit obigem Parametersatz eine Homologie von mindestens 80 % aufweist.

10

Funktionelle Äquivalente, abgeleitet von einer NADPH-Oxidase umfassend eine Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 oder 22 durch Substitution, Insertion oder Deletion, haben eine Homologie von mindestens 50 %, bevorzugt

15 mindestens 70 %, vorzugsweise mindestens 90 %, besonders bevorzugt mindestens 95 %, ganz besonders bevorzugt mindestens 98 % zu einem Polypeptid umfassend eine Polypeptidsequenz gemäß SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 oder 22 und zeichnen sich durch die gleichen wesentlichen Eigenschaften  
20 wie diese aus.

Funktionelle Äquivalente, abgeleitet einer eine Sequenz gemäß SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 oder 21 umfassenden NADPH-Oxidase Nukleinsäuresequenz durch Substitution, Insertion

25 oder Deletion, haben eine Homologie von mindestens 50 %, bevorzugt 70 %, vorzugsweise mindestens 90 %, besonders bevorzugt mindestens 95 %, ganz besonders bevorzugt mindestens 98 % zu einem der erfindungsgemäßen Polypeptid gemäß SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 oder 21 und kodieren für Polypeptide mit den  
30 gleichen wesentlichen Eigenschaften wie ein Polypeptide umfassend eine Sequenz gemäß SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 oder 22.

Auch die Durchmusterung von cDNA- oder genomischen-Bibliotheken

35 anderer Organismen, bevorzugt von den weiter unten genannten als Wirt zur Transformation geeigneten Pflanzenarten, unter Verwendung der unter SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 oder 21 beschriebene Nukleinsäuresequenzen oder Teilen derselben als Sonde, ist ein dem Fachmann geläufiges Verfahren, um Homologe  
40 in anderen Arte zu identifizieren. Dabei haben die von den Nukleinsäuresequenzen gemäß SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 oder 21 abgeleiteten Sonden eine Länge von mindestens 20 bp, bevorzugt mindestens 50 bp, besonders bevorzugt mindestens 100 bp, ganz besonders bevorzugt mindestens 200 bp, am meisten  
45 bevorzugt mindestens 400 bp. Für die Durchmusterung der Bibliotheken kann auch ein zu den unter SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11,

13, 15, 17, 19 oder 21 beschriebenen Sequenzen komplementärer DNA-Strang eingesetzt werden.

Funktionelle Äquivalente umfasst DNA Sequenzen, die unter  
5 Standardbedingungen mit der durch SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 oder 21 beschriebenen NADPH-Oxidase Nukleinsäuresequenzen, der zu ihr komplementären Nukleinsäuresequenz oder teilen der vorgenannten hybridisieren und als vollständige Sequenzen für Proteine kodieren, die die gleichen wesentlichen  
10 Eigenschaften haben wie ein Polypeptide umfassend eine Sequenz gemäß SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 oder 22.

"Standardhybridisierungsbedingungen" ist breit zu verstehen und meint stringente als auch weniger stringente Hybridisierungs-  
15 bedingungen. Solche Hybridisierungsbedingungen sind unter anderem bei Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T et al., in Molecular Cloning (A Laboratory Manual), 2. Auflage, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, Seiten 9.31-9.57) oder in Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989),  
20 6.3.1-6.3.6. beschrieben.

Beispielhaft können die Bedingungen während des Waschschrilles ausgewählt sein aus dem Bereich von Bedingungen begrenzt von solchen mit geringer Stringenz (mit ungefähr 2X SSC bei 50°C) und  
25 solchen mit hoher Stringenz (mit ungefähr 0.2X SSC bei 50°C bevorzugt bei 65°C) (20X SSC: 0,3M Natriumcitrat, 3M NaCl, pH 7.0). Darüberhinaus kann die Temperatur während des Waschschrilles von niedrig stringenten Bedingungen bei Raumtemperatur, ungefähr 22°C, bis zu stärker stringenten Bedingungen bei ungefähr 65°C angehoben -  
30 werden. Beide Parameter, Salzkonzentration und Temperatur, können gleichzeitig variiert werden, auch kann einer der beiden Parameter konstant gehalten und nur der andere variiert werden. Während der Hybridisierung können auch denaturierende Agenzien wie zum Beispiel Formamid oder SDS eingesetzt werden. In Gegen-  
35 wart von 50% Formamid wird die Hybridisierung bevorzugt bei 42°C ausgeführt. Einige beispielhafte Bedingungen für Hybridisierung und Waschschrift sind infolge gegeben:

(1) Hybridisierungsbedingungen zum Beispiel aus nachfolgenden  
40 Bedingungen ausgewählt sein:

- a) 4X SSC bei 65°C (mit - optional - 100 µg/ml denaturierter, fragmentierte Fischsperma-DNA)
- b) 6X SSC bei 45°C (mit - optional - 100 µg/ml denaturierter, fragmentierte Fischsperma-DNA),  
45
- c) 6X SSC, 0,5 % SDS, 50 % Formamid bei 42°C (mit - optional - 100 µg/ml denaturierter, fragmentierte Fischsperma-DNA)

## 31

- d) 4XSSC, 50 % Formamid bei 42°C (mit - optional - 100 µg/ml denaturierter, fragmentierter Fischsperma-DNA)  
e) 2X oder 4X SSC bei 50°C (schwach stringente Bedingung),  
f) 30 bis 40 % Formamid, 2X oder 4X SSC bei 42°C (schwach stringente Bedingung).

(2) Waschschritte können zum Beispiel aus nachfolgenden Bedingungen ausgewählt sein:

- a) 0,015 M NaCl/0,0015 M Natriumcitrat/0,1 % SDS bei 50°C.  
b) 0,1X SSC bei 65°C.  
c) 0,1X SSC, 0,5 % SDS bei 68°C.  
d) 0,1X SSC, 0,5 % SDS, 50 % Formamid bei 42°C.  
e) 0,2X SSC, 0,1 % SDS bei 42°C.  
f) 2X SSC bei 65°C (schwach stringente Bedingung).

Die Verminderung der Expression eines NADPH-Oxidase-Proteins, der NADPH-Oxidase-Aktivität oder der NADPH-Oxidase-Funktion kann auf vielfältige Art und Weise realisiert werden.

20

"Verminderung" oder "vermindern" ist im Zusammenhang mit einer NADPH-Oxidase, einer NADPH-Oxidase Aktivität oder NADPH-Oxidase-Funktion weit auszulegen und umfasst die teilweise oder im wesentlichen vollständige, auf unterschiedliche zellbiologische

Mechanismen beruhende Unterbindung oder Blockierung der Funktionalität einer NADPH-Oxidase in einer Pflanze oder einem davon abgeleiteten Teil, Gewebe, Organ, Zellen oder Samen. Eine Verminderung im Sinne der Erfindung umfasst auch eine mengenmäßige Verringerung einer NADPH-Oxidase bis hin zu einem im wesentlichen

vollständigen Fehlen der NADPH-Oxidase (d.h. fehlende Nachweisbarkeit von NADPH-Oxidase-Aktivität bzw. NADPH-Oxidase-Funktion oder fehlende immunologische Nachweisbarkeit des NADPH-Oxidase-Proteins). Dabei können einer oder mehrere essentielle Einheiten der NADPH-Oxidase vermindert werden. Dabei wird die Expression eines bestimmter NADPH-Oxidase oder die NADPH-Oxidase-Aktivität bzw. NADPH-Oxidase-Funktion in einer Zelle oder einem Organismus bevorzugt um mehr als 50 %, besonders bevorzugt um mehr als 80 %, ganz besonders bevorzugt um mehr als 90% vermindert.

Erfindungsgemäß sind verschiedene Strategien zur Verminderung der Expression eines NADPH-Oxidase-Proteins, der NADPH-Oxidase-Aktivität oder NADPH-Oxidase-Funktion umfasst. Beispielhaft - jedoch nicht einschränkend - seien zu nennen:

45

## 32

- a) Einbringen einer doppelsträngigen NADPH-Oxidase RNA-Nukleinsäuresequenz (NAox-dsRNA) oder einer deren Expression gewährleistenden Expressionskassette oder Expressionskassetten;
- 5 b) Einbringen einer NADPH-Oxidase antisense-Nukleinsäuresequenzen oder einer deren Expression gewährleistenden Expressionskassette. Umfasst sind solche Verfahren, bei denen die antisense-Nukleinsäuresequenz gegen ein NADPH-Oxidase-Gen (also genomische DNA-Sequenzen) oder ein NADPH-Oxidase-Gen-  
10 transkript (also RNA-Sequenzen) gerichtet ist. Umfasst sind auch  $\alpha$ -anomere Nukleinsäuresequenzen.
- c) Einbringen einer NADPH-Oxidase antisense-Nukleinsäuresequenzen kombiniert mit einem Ribozym oder einer deren Expression gewährleistenden Expressionskassette  
15
- d) Einbringen von NADPH-Oxidase sense-Nukleinsäuresequenzen zur Induktion einer Kosuppression oder einer deren Expression gewährleistenden Expressionskassette  
20
- e) Einbringen DNA-oder Protein-bindende Faktoren gegen NADPH-Oxidase -Gene, -RNAs oder -Proteine oder einer deren Expression gewährleistenden Expressionskassette  
25
- f) Einbringen von den NADPH-Oxidase RNA-Abbau bewirkende virale Nukleinsäuresequenzen und Expressionskonstrukten oder einer deren Expression gewährleistenden Expressionskassette
- 30 g) Einbringung von Konstrukten zur Induktion einer homologen Rekombination an endogenen NADPH-Oxidase-Genen beispielsweise zur Erzeugung von Knockout-Mutanten.
- h) Einführen von Mutationen in endogenen NADPH-Oxidase Gene zur Erzeugung eines Funktionsverlustes (z.B. Generierung von Stopp-Kodons, Verschiebungen im Leseraster etc.)  
35

Dabei kann jedes einzelne dieser Verfahren eine Verminderung der NADPH-Oxidase-Expression, NADPH-Oxidase-Aktivität oder NADPH-  
40 Oxidase-Funktion im Sinne der Erfindung bewirken. Auch eine kombinierte Anwendung ist denkbar. Weitere Methoden sind dem Fachmann bekannt und können die Behinderung oder Unterbindung der Prozessierung des NADPH-Oxidase-Proteins, des Transports des NADPH-Oxidase-Proteins oder dessen mRNA, Hemmung der Ribosomen-  
45 anlagerung, Hemmung des RNA-Spleißens, Induktion eines NADPH-

Oxidase-RNA abbauenden Enzyms und/oder Hemmung der Translations-elongation oder -termination umfassen.

Die einzelnen bevorzugten Verfahren seien infolge kurz

5 beschrieben:

a) Einbringung einer doppelsträngigen NADPH-Oxidase RNA-Nukleinsäuresequenz (NAox-dsRNA)

- 10 Das Verfahren der Genregulation mittels doppelsträngiger RNA ("double-stranded RNA interference"; dsRNAi) ist vielfach in tierischen und pflanzlichen Organismen beschrieben (z.B. Matzke MA et al. (2000) Plant Mol Biol 43:401-415; Fire A. et al (1998) Nature 391:806-811; WO 99/32619; WO 99/53050; WO 00/68374; 15 WO 00/44914; WO 00/44895; WO 00/49035; WO 00/63364). Auf die in den angegebenen Zitaten beschriebenen Verfahren und Methoden wird ausdrücklich Bezug genommen. Eine effiziente Gensuppression kann auch bei transienter Expression oder nach transienter Transformation beispielsweise infolge einer biolistischen Transformation gezeigt werden (Schweizer P et al. (2000) Plant J 2000 24:895-903). dsRNAi-Verfahren beruhen auf dem Phänomen, dass 20 durch gleichzeitiges Einbringen von komplementären Strang- und Gegenstrang eines Gentranskriptes eine hocheffiziente Unterdrückung der Expression des entsprechenden Gens bewirkt wird. 25 Der bewirkte Phänotyp kommt dem einer entsprechenden knock-out Mutanten sehr ähnlich (Waterhouse PM et al. (1998) Proc Natl Acad Sci USA 95:13959-64).

Das dsRNAi-Verfahren hat sich bei der Verminderung der NADPH-

- 30 Oxidase-Expression als besonders effizient und vorteilhaft erwiesen. Wie u.a. in WO 99/32619 beschrieben sind dsRNAi-Ansätze klassischen antisense-Ansätzen deutlich überlegen.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung bezieht sich daher

- 35 auf doppelsträngige RNA-Moleküle (dsRNA-Moleküle), die bei Einführung in eine Pflanze (oder eine davon abgeleitete Zelle, Gewebe, Organ oder Samen) die Verminderung eines NADPH-Oxidase bewirken.

- 40 Das doppelsträngige RNA-Molekül zur Verminderung der Expression eines NADPH-Oxidase Proteins ist dadurch gekennzeichnet, dass

a) einen "sense"-RNA-Strang umfassend mindestens eine Ribonukleotidsequenz, die im wesentlichen identisch ist zu

- 45 zumindest einem Teil einer NADPH-Oxidase-Nukleinsäuresequenz, und

- b) einen "antisense"-RNA-Strang, der zu dem RNA-sense-Strang unter a) im wesentlichen - bevorzugt vollständig - komplementären ist.

5 In einer weiterhin bevorzugten Ausführungsform umfasst das doppelsträngige RNA-Molekül zur Verminderung der Expression eines NADPH-Oxidase Proteins

- 10 a) einen "sense"-RNA-Strang umfassend mindestens eine Ribonukleotidsequenz, die im wesentlichen identisch ist zu mindestens einem Teil des "sense"-RNA-Transkriptes einer Nukleinsäuresequenz kodierend für ein NADPH-Oxidase Protein, und

- 15 b) einen "antisense"-RNA-Strang, der zu dem RNA-sense-Strang unter a) im wesentlichen - bevorzugt vollständig - komplementären ist.

- 20 In Bezug auf die doppelsträngigen RNA-Moleküle meint NADPH-Oxidase-Nukleinsäuresequenz bevorzugt eine Sequenz umfassend eine Sequenz gemäß SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 oder 21.

- Im wesentlichen identisch" meint, dass die dsRNA Sequenz auch  
25 Insertionen, Deletionen sowie einzelne Punktmutationen im Vergleich zu der NADPH-Oxidase Zielsequenz oder einer funktionell äquivalenten Zielsequenz aufweisen kann und dennoch eine effizient Verminderung der Expression bewirken. Bevorzugt beträgt die Homologie nach obiger Definition mindestens 75 %, bevorzugt mindestens 80 %, ganz besonders bevorzugt mindestens 90 % am meisten bevorzugt 100 % zwischen dem "sense"-Strang einer inhibitorischen dsRNA und mindestens einem Teil des "sense"-RNA-Transkriptes einer Nukleinsäuresequenz kodierend für ein NADPH-Oxidase Protein oder ein funktionelles Äquivalent desselben (bzw. zwischen  
30 dem "antisense"-Strang dem komplementären Strang einer Nukleinsäuresequenz kodierend für ein NADPH-Oxidase Protein oder ein funktionelles Äquivalent desselben).

- Die Länge des Teilabschnittes beträgt mindestens 10 Basen,  
40 bevorzugt mindestens 25 Basen, besonders bevorzugt mindestens 50 Basen, ganz besonders bevorzugt mindestens 100 Basen, am meisten bevorzugt mindestens 200 Basen oder mindestens 300 Basen.

- Alternativ, kann eine "im wesentlichen identische" dsRNA auch als  
45 Nukleinsäuresequenz definiert werden, die befähigt ist, mit einem Teil eines Speicherprotein Gentranskriptes zu hybridisieren (z.B.

in 400 mM NaCl, 40 mM PIPES pH 6,4, 1 mM EDTA bei 50°C oder 70°C für 12 bis 16 h).

"Im wesentlichen komplementär" meint, dass der "antisense"-  
5 RNA-Strang auch Insertionen, Deletionen sowie einzelne Punkt-  
mutationen im Vergleich zu dem Komplement des "sense"-RNA-  
Stranges aufweisen kann. Bevorzugt beträgt die Homologie min-  
destens 80 %, bevorzugt mindestens 90 %, ganz besonders bevorzugt  
mindestens 95 %, am meisten bevorzugt 100% zwischen dem "anti-  
10 sense"-RNA-Strang und dem Komplement des "sense"-RNA-Strangs.

"Teil des "sense"-RNA-Transkriptes" einer Nukleinsäuresequenz  
kodierend für ein NADPH-Oxidase Protein oder ein funktionelles  
Äquivalent desselben meint Fragmente einer RNA oder mRNA  
15 transkribiert von einer für ein NADPH-Oxidase-Protein oder ein  
funktionelles Äquivalent desselben kodierenden Nukleinsäure-  
sequenz, bevorzugt von einem NADPH-Oxidase-Gen. Dabei haben die  
Fragmente bevorzugt eine Sequenzlänge von mindestens 20 Basen,  
bevorzugt mindestens 50 Basen, besonders bevorzugt mindestens  
20 100 Basen, ganz besonders bevorzugt mindestens 200 Basen, am  
meisten bevorzugt mindestens 500 Basen. Umfasst ist auch die  
vollständige transkribierte RNA oder mRNA.

Umfasst ist auch die Verwendung der erfindungsgemäßen dsRNA-  
25 Moleküle in den erfindungsgemäßen Verfahren zur Erzeugung einer  
Pathogenresistenz in Pflanzen.

Die dsRNA kann aus einem oder mehr Strängen polymerisierter Ribo-  
nukleotide bestehen. Es können ferner Modifikationen sowohl des  
30 Zucker-Phosphat-Gerüsts als auch der Nukleoside vorliegen. Bei-  
spielsweise können die Phosphodiesterbindungen der natürlichen  
RNA dahingehend modifiziert sein, dass sie zumindest ein Stick-  
stoff oder Schwefel-Heteroatom umfassen. Basen können dahin-  
gehend modifiziert werden, dass die Aktivität beispielsweise von  
35 Adenosindeaminase eingeschränkt wird. Solche und weitere Modi-  
fikationen sind weiter unten bei den Verfahren zur Stabilisierung  
von antisense-RNA beschrieben.

Natürlich können, um den gleichen Zweck zu erreichen, auch  
40 mehrere individuelle dsRNA Moleküle, die jeweils einen der oben  
definierten Ribonukleotidsequenzabschnitte umfassen, in die Zelle  
oder den Organismus eingebracht werden.

Die dsRNA kann enzymatisch oder ganz oder teilweise chemisch-  
45 synthetisch hergestellt werden.

## 36

Die doppelsträngige dsRNA Struktur kann ausgehend von zwei komplementären, separaten RNA-Strängen oder - bevorzugt - ausgehend von einem einzelnen, selbstkomplementären RNA-Strang gebildet werden.

5

Bei einem einzelnen, selbstkomplementären Strang, können "sense"- und "antisense"-Sequenz durch eine verbindende Sequenz ("Linker") verknüpft sein und beispielsweise eine Haarnadelstruktur ausbilden. Bevorzugt kann die verbindende Sequenz ein Intron sein,

10 das nach Synthese der dsRNA herausgespleißt wird.

Die Nukleinsäuresequenz kodierend für eine dsRNA kann weitere Elemente beinhalten, wie beispielsweise Transkriptionsterminationssignale oder Polyadenylierungssignale.

15

Sollen die zwei Stränge der dsRNA in einer Zelle oder Pflanze zusammengebracht werden, so kann dies auf verschiedene Art geschehen:

20 a) Transformation der Zelle oder Pflanze mit einem Vektor, der beide Expressionskassetten umfasst,

b) Kotransformation der Zelle oder Pflanze mit zwei Vektoren, wobei der eine die Expressionskassetten mit

25 dem "sense"-Strang, der andere die Expressionskassetten mit dem "antisense"-Strang umfasst.

c) Kreuzung von zwei Pflanzen, die mit jeweils einem Vektor transformiert wurden, wobei der eine die Expressionskassetten - mit dem "sense"-Strang, der andere die Expressionskassetten mit dem "antisense"-Strang umfasst.

30

Die Bildung der RNA Duplex kann entweder außerhalb der Zelle oder innerhalb derselben initiiert werden. Wie in WO 99/53050 kann 35 die dsRNA auch eine Haarnadelstruktur umfassen, indem "sense"- und "antisense"-Strang durch einen "Linker" (beispielsweise ein Intron) verbunden werden. Die selbstkomplementären dsRNA-Strukturen sind bevorzugt, da sie lediglich die Expression eines Konstruktes erfordern und die komplementären Stränge stets in 40 einem äquimolaren Verhältnis umfassen.

Die Expressionskassetten kodierend für den "antisense"- oder "sense"-Strang einer dsRNA oder für den selbstkomplementären Strang der dsRNA, werden bevorzugt in einen Vektor inseriert 45 und mit den unten beschriebenen Verfahren stabil (beispielsweise unter Verwendung von Selektionsmarkern) in das Genom

einer Pflanze insertiert, um eine dauerhafte Expression der dsRNA zu gewährleisten.

- Die dsRNA kann unter Verwendung einer Menge eingeführt werden, 5 die zumindest ein Kopie pro Zelle ermöglicht. Höhere Mengen (z.B. mindestens 5, 10, 100, 500 oder 1000 Kopien pro Zelle) können ggf. eine effizienter Verminderung bewirken.

- Wie bereits beschrieben, ist eine 100%ige Sequenzidentität 10 zwischen dsRNA und einem NADPH-Oxidase Gentranskript oder dem Gentranskript eines funktionell äquivalenten Gens nicht zwingend erforderlich, um eine effiziente Verminderung der NADPH-Oxidase Expression zu bewirken. Demzufolge besteht der Vorteil, dass das Verfahren tolerant ist gegenüber Sequenzabweichungen, wie sie 15 infolge genetischer Mutationen, Polymorphismen oder evolutionärer Divergenzen vorliegen können. So ist es beispielsweise möglich mit der dsRNA, die ausgehend von der NADPH-Oxidase Sequenz des einen Organismus generiert wurde, die NADPH-Oxidase Expression in einem anderen Organismus zu unterdrücken. Die hohe Sequenz- 20 homologie zwischen den NADPH-Oxidase Sequenzen aus Reis, Mais und Gerste lässt auf einen hohen Konservierungsgrad dieses Proteins innerhalb von Pflanzen schließen, so dass die Expression einer dsRNA abgeleitet von einer der NADPH-Oxidase Sequenzen umfassend eine Sequenz gemäß SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 25 oder 21 auch einen vorteilhaften Effekt in anderen Pflanzenarten haben dürfte.

- Auch ist es aufgrund der hohen Homologie zwischen den einzelnen NADPH-Oxidase-Proteinen und ihren funktionellen Äquivalenten mög- 30 lich mit einer einzigen dsRNA, die ausgehend von einer bestimmten NADPH-Oxidase-Sequenz eines Organismus generiert wurde, die Expression weiterer homologer NADPH-Oxidase-Proteine und/oder deren funktioneller Äquivalente des gleichen Organismus oder aber auch die Expression von NADPH-Oxidase-Proteinen in anderen ver- 35 wandten Arten zu unterdrücken. Zu diesem Zweck umfasst die dsRNA bevorzugt Sequenzbereich von NADPH-Oxidase-Gentranskripten, die konservierten Bereichen entsprechen. Besagte konservierte Bereiche können aus Sequenzvergleichen leicht abgeleitet werden.

- 40 Die dsRNA kann entweder in vivo oder in vitro synthetisiert werden. Dazu kann eine DNA-Sequenz kodierend für eine dsRNA in eine Expressionskassette unter Kontrolle mindestens eines genetischen Kontrollelementes (wie beispielsweise Promotor, Enhancer, Silencer, Splice-Donor oder -Akzeptor, Poly- 45 adenylierungssignal) gebracht werden. Entsprechend vorteilhafte Konstruktionen sind weiter unten beschrieben. Eine Poly-

adenylierung ist nicht erforderlich, ebenso müssen keine Elemente zur Initiierung einer Translation vorhanden sein.

Eine dsRNA kann chemisch oder enzymatisch synthetisiert werden.

- 5 Dazu können zelluläre RNA Polymerasen oder Bakteriophagen RNA Polymerasen (wie z.B. T3-, T7- oder SP6 RNA-Polymerase) verwendet werden. Entsprechende Verfahren zu in vitro Expression von RNA sind beschrieben (WO 97/32016; US 5,593,874; US 5,698,425, US 5,712,135, US 5,789,214, US 5,804,693). Eine chemisch oder
- 10 enzymatisch in vitro syntetisierte dsRNA kann vor der Einführung in eine Zelle, Gewebe oder Organismus aus dem Reaktionsgemisch beispielsweise durch Extraktion, Präzipitation, Elektrophorese, Chromatographie oder Kombinationen dieser Verfahren ganz oder teilweise aufgereinigt werden. Die dsRNA kann unmittelbar in die
- 15 Zelle eingeführt werden oder aber auch extrazellulär (z.B. in den interstitialen Raum) appliziert werden.

- Bevorzugt wird die Pflanze jedoch stabil mit einem Expressionskonstrukt, das die Expression der dsRNA realisiert, transformiert.
- 20 miert. Entsprechende Verfahren sind weiter unten beschrieben.

b) Einbringung einer NADPH-Oxidase antisense-Nukleinsäuresequenz

- Verfahren zur Suppression eines bestimmten Proteins durch Ver-
- 25 hinderung der Akkumulation seiner mRNA durch die "antisense"-Technologie sind vielfach - auch in Pflanzen - beschrieben (Sheehy et al. (1988) Proc Natl Acad Sci USA 85: 8805-8809; US 4,801,340; Mol JN et al. (1990) FEBS Lett 268(2):427-430). Das antisense Nukleinsäuremolekül hybridisiert bzw. bindet mit
- 30 der zellulären mRNA und/oder genomischen DNA kodierend für das zu supprimierende NADPH-Oxidase-Zielprotein. Dadurch wird die Transkription und/oder Translation des Zielproteins unterdrückt. Die Hybridisierung kann auf konventionelle Art über die Bildung einer stabilen Duplex oder - im Fall von genomischer DNA - durch
- 35 Bindung des antisense Nukleinsäuremoleküls mit der Duplex der genomischen DNA durch spezifische Wechselwirkung in der großen Furche der DNA-Helix entstehen.

- Eine antisense Nukleinsäuresequenz geeignet zur Verminderung
- 40 eines NADPH-Oxidase-Proteins kann unter Verwendung der für dieses Protein kodierenden Nukleinsäuresequenz, beispielsweise der Nukleinsäuresequenz umfassend eine Sequenz gemäß SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 oder 21, nach den Basenpaarregeln von Watson und Crick abgeleitet werden.
- 45 Die antisense Nukleinsäuresequenz kann zu der gesamten transkribierten mRNA des besagten Proteins komplementär sein, sich auf die kodierende Region beschränken oder nur aus einem

Oligonukleotid bestehen, das zu einem Teil der kodierenden oder nicht-kodierenden Sequenz der mRNA komplementär ist. So kann das Oligonukleotid beispielsweise komplementär zu der Region sein, die den Translationsstart für das besagte Protein umfasst. Antisense-Nukleinsäuresequenzen können eine Länge von zum Beispiel 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 oder 50 Nukleotide haben, können aber auch länger sein und mindestens 100, 200, 500, 1000, 2000 oder 5000 Nukleotide umfassen. Antisense-Nukleinsäuresequenzen können rekombinant exprimiert oder chemisch bzw. enzymatisch unter Verwendung von dem Fachmann bekannten Verfahren synthetisiert werden. Bei der chemischen Synthese können natürlich oder modifizierte Nukleotide verwendet werden. Modifizierte Nukleotide können der antisense Nukleinsäuresequenz eine erhöhte biochemische Stabilität verleihen und zu einer erhöhten physikalischen Stabilität der Duplex gebildet aus antisense-Nukleinsäuresequenz und sense-Zielsequenz führen. Verwendet werden können beispielsweise Phosphorothioatderivative und Acridin-substituierte Nukleotide wie 5-Fluorouracil, 5-Bromouracil, 5-Chlorouracil, 5-Iodouracil, Hypoxanthin, Xanthin, 4-Acetylcytosin, 5-(Carboxyhydroxymethyl)uracil, 5-Carboxymethylaminomethyl-2-thiouridin, 5-Carboxymethylaminomethyluracil, Dihydrouracil,  $\beta$ -D-Galactosylqueosin, Inosine, N6-Isopentenyladenin, 1-Methylguanin, 1-Methylinosin, 2,2-Dimethylguanin, 2-Methyladenin, 2-Methylguanin, 3-Methylcytosin, 5-Methylcytosin, N6-Adenin, 7-Methylguanin, 5-Methylaminomethyluracil, 5-Methoxyaminomethyl-2-thiouracil,  $\beta$ -D-mannosylqueosin, 5'-Methoxycarboxymethyluracil, 5-Methoxyuracil, 2-Methylthio-N6-isopentenyladenin, Uracil-5-oxyessigsäure, Pseudouracil, Queosine, 2-Thiocytosin, 5-Methyl-2-thiouracil, 2-Thiouracil, 4-Thiouracil, 5-Methyluracil, Uracil-5-oxyessigsäuremethylester, Uracil-5-oxyessigsäure, 5-Methyl-2-thiouracil, 3-(3-Amino-3-N-2-carboxypropyl)uracil und 2,6-Diaminopurin.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform kann die Expression eines NADPH-Oxidase-Proteins durch Nukleotidsequenzen inhibiert werden, die komplementär zu der regulatorischen Region eines NADPH-Oxidase-Gens (z.B. einem NADPH-Oxidase Promoter und/oder Enhancer) sind und triple-helikale Strukturen mit der dortigen DNA-Doppelhelix ausbilden, so dass die Transkription des NADPH-Oxidase-Gens vermindert wird. Entsprechende Verfahren sind beschrieben (Helene C (1991) Anticancer Drug Res 6(6):569-84; Helene C et al. (1992) Ann NY Acad Sci 660:27-36; Maher LJ (1992) Bioassays 14(12):807-815).

In einer weiteren Ausführungsform kann das antisense Nukleinsäuremolekül eine  $\alpha$ -anomere Nukleinsäure sein. Derartige  $\alpha$ -anomere Nukleinsäuremoleküle bilden spezifische doppel-

strängige Hybride mit komplementärer RNA in denen - im Unterschied zu den konventionellen  $\beta$ -Nukleinsäuren - die beiden Stränge parallel zueinander verlaufen (Gautier C et al. (1987) Nucleic Acids Res 15:6625-6641). Das antisense Nukleinsäuremolekül kann  
5 ferner auch 2'-O-Methylribonukleotide (Inoue et al. (1987) Nucleic Acids Res 15:6131-6148) oder chimäre RNA-DNA Analoge beinhalten (Inoue et al. (1987) FEBS Lett 215:327-330).

- c) Einbringung einer NADPH-Oxidase antisense-Nukleinsäuresequenz  
10 kombiniert mit einem Ribozym

Vorteilhaft kann die oben beschriebene antisense-Strategie mit einem Ribozym-Verfahren gekoppelt werden. Katalytische RNA-Moleküle oder Ribozyme können an jede beliebige Ziel-RNA angepasst  
15 werden und spalten das Phosphodiester-Gerüst an spezifischen Positionen, wodurch die Ziel-RNA funktionell deaktiviert wird (Tanner NK (1999) FEMS Microbiol Rev 23(3):257-275). Das Ribozym wird dadurch nicht selber modifiziert, sondern ist in der Lage, weitere Ziel-RNA-Moleküle analog zu spalten, wodurch es die  
20 Eigenschaften eines Enzyms erhält. Der Einbau von Ribozymsequenzen in "antisense"-RNAs verleiht eben diesen "antisense"-RNAs diese enzymähnliche, RNA-spaltende Eigenschaft und steigert so deren Effizienz bei der Inaktivierung der Ziel-RNA. Die Herstellung und Verwendung entsprechender Ribozym-"anti-  
25 sense"-RNA-Moleküle ist beispielsweise beschrieben bei Haseloff et al. (1988) Nature 334:585-591.

Auf diese Art können Ribozyme (z.B. "Hammerhead"-Ribozyme; Haselhoff und Gerlach (1988) Nature 334:585-591) verwendet werden, um  
30 die mRNA eines zu supprimierenden Enzyms - z.B. NADPH-Oxidase - katalytisch zu spalten und die Translation zu verhindern. Die Ribozym-Technologie kann die Effizienz einer antisense-Strategie erhöhen. Verfahren zur Expression von Ribozymen zur Verminderung bestimmter Proteine sind beschrieben in (EP 0 291 533, EP 0 321  
35 201, EP 0 360 257). In pflanzlichen Zellen ist eine Ribozym-Expression ebenfalls beschrieben (Steinecke P et al. (1992) EMBO J 11(4):1525-1530; de Feyter R et al. (1996) Mol Gen Genet. 250(3):329-338). Geeignete Zielsequenzen und Ribozyme können zum Beispiel wie bei "Steinecke P, Ribozymes, Methods in Cell  
40 Biology 50, Galbraith et al. eds, Academic Press, Inc. (1995), S. 449-460" beschrieben, durch Sekundärstrukturberechnungen von Ribozym- und Ziel-RNA sowie durch deren Interaktion bestimmt werden (Bayley CC et al. (1992) Plant Mol Biol. 18(2):353-361; Lloyd AM and Davis RW et al. (1994) Mol Gen Genet.  
45 242(6):653-657). Beispielsweise können Derivate der Tetrahymena L-19 IVS RNA konstruiert werden, die komplementäre Bereiche zu der mRNA des zu supprimierenden NADPH-Oxidase Proteins aufweisen

(siehe auch US 4,987,071 und US 5,116,742). Alternativ können solche Ribozyme auch über einen Selektionsprozess aus einer Bibliothek diverser Ribozyme identifiziert werden (Bartel D und Szostak JW (1993) Science 261:1411-1418).

5

- d) Einbringung einer NADPH-Oxidase sense-Nukleinsäuresequenz zur Induktion eines Kosuppression

- Die Expression einer NADPH-Oxidase Nukleinsäuresequenz in sense-
- 10 Orientierung kann zu einer Kosuppression des entsprechenden homologen, endogenen Gens führen. Die Expression von sense-RNA mit Homologie zu einem endogenen Gen kann die Expression desselben vermindern oder ausschalten, ähnlich wie es für antisense Ansätze beschrieben wurde (Jorgensen et al. (1996) Plant Mol
- 15 Biol 31(5):957-973; Goring et al. (1991) Proc Natl Acad Sci USA 88:1770-1774; Smith et al. (1990) Mol Gen Genet 224:447-481; Napoli et al. (1990) Plant Cell 2:279-289; Van der Krol et al. (1990) Plant Cell 2:291-99). Dabei kann das eingeführte Konstrukt das zu vermindernde, homologe Gen ganz oder nur teilweise
- 20 representieren. Die Möglichkeit zur Translation ist nicht erforderlich. Die Anwendung dieser Technologie auf Pflanzen ist beispielsweise beschrieben bei Napoli et al. (1990) The Plant Cell 2: 279-289 und in US 5,034,323.
- 25 Bevorzugt wird die Kosuppression unter Verwendung einer Sequenz realisiert, die im wesentlichen identisch ist zu zumindest einem Teil der Nukleinsäuresequenz kodierend für ein NADPH-Oxidase-Protein oder ein funktionelles Äquivalent desselben, beispielsweise der Nukleinsäuresequenz umfassend eine Sequenz gemäß
- 30 SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 oder 21.

- e) Einbringung DNA-oder Protein-bindende Faktoren gegen NADPH-Oxidase Gene, -RNAs oder Proteine

- 35 Eine Verminderung einer NADPH-Oxidase Genexpression ist auch mit spezifischen DNA-bindenden Faktoren z.B. mit Faktoren vom Typus der Zinkfingertranskriptionsfaktoren möglich. Diese Faktoren lagern sich an die genomische Sequenz des endogenen Zielgens, bevorzugt in den regulatorischen Bereichen, an und bewirken
- 40 eine Repression des endogenen Gens. Die Verwendung eines solchen Verfahrens ermöglicht die Verminderung der Expression eines endogenen NADPH-Oxidase Gens, ohne dass dessen Sequenz gentechnisch manipuliert werden muss. Entsprechende Verfahren zur Herstellung entsprechender Faktoren sind beschrieben (Dreier B et al. (2001)
- 45 J Biol Chem 276(31):29466-78; Dreier B et al. (2000) J Mol Biol 303(4):489-502; Beerli RR et al. (2000) Proc Natl Acad Sci USA 97 (4):1495-1500; Beerli RR et al. (2000) J Biol Chem

- 275(42):32617-32627; Segal DJ and Barbas CF 3rd. (2000) Curr Opin Chem Biol 4(1):34-39; Kang JS and Kim JS (2000) J Biol Chem 275(12):8742-8748; Beerli RR et al. (1998) Proc Natl Acad Sci USA 95(25):14628-14633; Kim JS et al. (1997) Proc Natl Acad Sci USA 94(8):3616-3620; Klug A (1999) J Mol Biol 293(2):215-218; Tsai SY et al. (1998) Adv Drug Deliv Rev 30(1-3):23-31; Mapp AK et al. (2000) Proc Natl Acad Sci USA 97(8):3930-3935; Sharrocks AD et al. (1997) Int J Biochem Cell Biol 29(12):1371-1387; Zhang L et al. (2000) J Biol Chem 275(43):33850-33860).

10

Die Selektion dieser Faktoren kann unter Verwendung eines beliebigen Stückes eines NADPH-Oxidase-Gens erfolgen. Bevorzugt liegt dieser Abschnitt im Bereich der Promotorregion. Für eine Genunterdrückung kann er aber auch im Bereich der kodierenden

- 15 Exons oder Introns liegen. Die entsprechenden Abschnitte sind für den Fachmann mittels Datenbankabfrage aus der Genbank oder - ausgehend von einer NADPH-Oxidase cDNA, deren Gen nicht in der Genbank vorhanden ist, durch Durchmusterung einer genomischen Bibliothek nach korrespondierenden genomischen Klonen erhältlich.
- 20 Die dazu erforderlichen Verfahren sind dem Fachmann geläufig.

Ferner können Faktoren in eine Zelle eingebracht werden, die das NADPH-Oxidase Zielprotein selber inhibieren. Die proteinbindenden Faktoren können z.B. Aptamere (Famulok M und Mayer G (1999) Curr

- 25 Top Microbiol Immunol 243:123-36) oder Antikörper bzw. Antikörperfragmente oder einzelkettige Antikörper sein. Die Gewinnung dieser Faktoren ist beschrieben und dem Fachmann bekannt. Beispielsweise wurde ein cytoplasmatischer scFv Antikörper eingesetzt, um die Aktivität des Phytochrom A Proteins in gentechnisch veränderten Tabakpflanzen zu modulieren (Owen M et al. (1992) Biotechnology (N Y) 10(7):790-794; Franken E et al. (1997) Curr Opin Biotechnol 8(4):411-416; Whitelam (1996) Trend Plant Sci 1:286-272).

- 35 Die Genexpression kann auch durch maßgeschneiderte, niedermolekulare synthetische Verbindungen unterdrückt werden, beispielsweise vom Polyamid-Typ (Dervan PB und Bürlí RW (1999) Current Opinion in Chemical Biology 3:688-693; Gottesfeld JM et al. (2000) Gene Expr 9(1-2):77-91). Diese Oligomere
- 40 bestehen aus den Bausteinen 3-(Dimethylamino)propylamin, N-Methyl-3-hydroxypyrrol, N-Methylimidazol und N-Methylpyrrole und können an jedes Stück doppelsträngiger DNA so angepasst werden, dass sie sequenzspezifisch in die große Furche binden und die Expression der dortigen Genesequenzen blockieren. Entsprechende Verfahren sind beschrieben (siehe unter anderem Bremer
- 45 RE et al. (2001) Bioorg Med Chem. 9(8):2093-103; Ansari AZ et al. (2001) Chem Biol. 8(6):583-92; Gottesfeld JM et al. (2001) J Mol

Biol. 309(3):615-29; Wurtz NR et al. (2001) Org Lett 3(8):1201-3; Wang CC et al. (2001) Bioorg Med Chem 9(3):653-7; Urbach AR und Dervan PB (2001) Proc Natl Acad Sci USA 98(8):4343-8; Chiang SY et al. (2000) J Biol Chem. 275(32):24246-54).

5

- f) Einbringung von den NADPH-Oxidase RNA-Abbau bewirkenden viralen Nukleinsäuresequenzen und Expressionskonstrukten

Die NADPH-Oxidase Expression kann effektiv auch durch Induktion  
10 des spezifischen NADPH-Oxidase RNA-Abbaus durch die Pflanze mit Hilfe eines viralen Expressionssystems (Amplikon) (Angell, SM et al. (1999) Plant J. 20(3):357-362) realisiert werden. Diese Systeme - auch als "VIGS" (viral induced gene silencing) bezeichnet - bringen Nukleinsäuresequenzen mit Homologie zu den  
15 zu supprimierenden Transkripten mittels viraler Vektoren in die Pflanze ein. Die Transkription wird sodann - vermutlich mediert durch pflanzliche Abwehrmechanismen gegen Viren - abgeschaltet. Entsprechende Techniken und Verfahren sind beschrieben (Ratcliff F et al. (2001) Plant J 25(2):237-45; Fagard M und Vaucheret H  
20 (2000) Plant Mol Biol 43(2-3):285-93; Anandalakshmi R et al. (1998) Proc Natl Acad Sci USA 95(22):13079-84; Ruiz MT (1998) Plant Cell 10(6): 937-46).

- g) Einbringung von Konstrukten zur Induktion einer homologen  
25 Rekombination an endogenen NADPH-Oxidase-Genen beispielsweise zur Erzeugung von Knockout-Mutanten.

Zur Herstellung eines homolog rekombinanten Organismus mit verminderter NADPH-Oxidase-Aktivität verwendet man beispielsweise  
30 weise ein Nukleinsäurekonstrukt, das zumindest einen Teil eines endogenen NADPH-Oxidase Gens enthält, das durch eine Deletion, Addition oder Substitution mindestens eines Nukleotids so verändert wird, so dass die Funktionalität vermindert oder gänzlich aufgehoben wird. Die Veränderung kann auch die  
35 regulativen Elemente (z.B. den Promotor) des Gens betreffen, so dass die kodierende Sequenz unverändert bleibt, eine Expression (Transkription und/oder Translation) jedoch unterbleibt und vermindert wird.

- 40 Bei der konventionellen homologen Rekombination ist die veränderte Region an ihrem 5'- und 3'-Ende von weiteren Nukleinsäuresequenzen flankiert, die eine ausreichende Länge für die Ermöglichung der Rekombination aufweisen müssen. Die Länge liegt in der Regel in einem Bereich von mehreren einhundert Basen  
45 bis zu mehreren Kilobasen (Thomas KR und Capecchi MR (1987) Cell 51:503; Strepp et al. (1998) Proc Natl Acad Sci USA 95(8):4368-4373). Für die homologe Rekombination wird der Wirts-

organismus - zum Beispiel eine Pflanze - mit dem Rekombinationskonstrukt unter Verwendung der unten beschriebenen Verfahren transformiert und erfolgreich rekombinierte Klone unter Verwendung zum Beispiel einer Antibiotika- oder Herbizidresistenz selektioniert.

Homologe Rekombination ist ein relativ seltenes Ereignis in höheren Eukaryoten, vor allem in Pflanzen. Zufällige Integrationen in das Wirtsgenom überwiegen. Eine Möglichkeit die zufällig integrierten Sequenzen zu entfernen und so Zellklone mit einer korrekten homologen Rekombination anzureichern, besteht in der Verwendung eines sequenzspezifischen Rekombinationssystems wie in US 6,110,736 beschrieben, durch welche unspezifisch integrierte Sequenzen wieder deletiert werden können, was die Selektion erfolgreich über homologe Rekombination integrierter Ereignisse erleichtert. Eine Vielzahl von sequenzspezifischen Rekombinationssystemen kann verwendet werden, beispielhaft sind das Cre/lox-System des Bacteriophagen P1, das FLP/FRT System der Hefe, die Gin Rekombinase des Mu Phagen, die Pin Rekombinase aus E. coli und das R/RS System des pSR1 Plasmids genannt. Bevorzugt sind das Bacteriophagen P1 Cre/lox und das Hefe FLP/FRT System. Das FLP/FRT und cre/lox Rekombinasesystem wurde bereits in pflanzlichen Systemen angewendet (Odell et al. (1990) Mol Gen Genet 223: 369-378)

25

h) Einführung von Mutationen in endogene NADPH-Oxidase Gene zur Erzeugung eines Funktionsverlustes (z.B. Generierung von Stopp-Kodons, Verschiebungen im Leseraster etc.)

Weitere geeignete Methoden zur Verminderung der NADPH-Oxidase-Aktivität sind die Einführung von Nonsense-Mutationen in endogene NADPH-Oxidase Gene zum Beispiel mittels Einführung von RNA/DNA-Oligonukleotiden in die Pflanze (Zhu et al. (2000) Nat Biotechnol 18(5):555-558) sowie die Generierung von Knockout-Mutanten mit Hilfe von z.B. T-DNA-Mutagenese (Koncz et al. (1992) Plant Mol Biol 20(5):963-976), ENU-(N-Ethyl-N-nitrosoharnstoff) - Mutagenese oder homologer Rekombination (Hohn B und Puchta (1999) H Proc Natl Acad Sci USA 96:8321-8323.). Punktmutationen können auch mittels DNA-RNA Hybriden erzeugt werden, die auch als "chimeraplasty" bekannt sind (Cole-Strauss et al. (1999) Nucl Acids Res 27(5):1323-1330; Kmiec (1999) Gene therapy American Scientist 87(3):240-247).

Die Methoden der dsRNAi, der Kosuppression mittels sense-RNA und der "VIGS" ("virus induced gene silencing") werden auch als "post-transcriptional gene silencing" (PTGS) bezeichnet. PTGS-Verfahren wie auch die Verminderung der NADPH-Oxidase-Funktion

oder Aktivität mit dominant-negativen NADPH-Oxidase-Varianten sind besonders vorteilhaft, weil die Anforderungen an die Homologie zwischen dem zu supprimierenden endogenem Gen und der transgen exprimierten sense- oder dsRNA-Nukleinsäuresequenz

5 (bzw. zwischen dem endogenen Gen und seiner dominant-negativen Variante) geringer sind als beispielsweise bei einem klassischen antisense-Ansatz. Entsprechende Homologie-Kriterien sind bei der Beschreibung des dsRNAI-Verfahrens genannt und allgemein für PTGS-Verfahren oder dominant-negative Ansätze übertragbar. Auf-

10 grund der hohen Homologie zwischen den NADPH-Oxidase-Proteinen aus Mais, Reis und Gerste kann auf einen hohen Konservierungsgrad dieses Protein bei Pflanzen geschlossen werden. So kann man voraussichtlich unter Verwendung der NADPH-Oxidase-Nukleinsäuresequenzen aus Gerste, Mais oder Reis auch die Expression von

15 homologen NADPH-Oxidase-Proteinen in anderen Arten effektiv supprimieren, ohne dass die Isolierung und Strukturaufklärung der dort vorkommenden NADPH-Oxidase-Homologen zwingend erforderlich wäre. Dies erleichtert erheblich den Arbeitsaufwand. Analog kann man voraussichtlich auch unter Verwendung von dominant-negativen

20 Varianten eines NADPH-Oxidase-Proteins aus Reis, Mais oder Gerste die Funktion/Aktivität seines Homologs in anderen Pflanzenarten effektiv vermindern oder unterdrücken.

Alle Substanzen und Verbindungen die direkt oder indirekt eine

25 Verminderung der Proteinmenge, RNA-Menge, Genaktivität oder Proteinaktivität eines NADPH-Oxidase-Proteins bewirken, seien infolge unter der Bezeichnung "anti-NADPH-Oxidase"-Verbindungen zusammengefasst. Der Begriff "anti-NADPH-Oxidase"-Verbindung schließt explizit die in den oben beschriebenen Verfahren zum

30 Einsatz kommenden Nukleinsäuresequenzen, Peptide, Proteine oder andere Faktoren ein.

"Einbringung" umfasst im Rahmen der Erfindung alle Verfahren, die dazu geeignet eine "anti-NADPH-Oxidase"-Verbindung, direkt oder

35 indirekt, in eine Pflanze oder eine Zelle, Kompartiment, Gewebe, Organ oder Samen derselben einzuführen oder dort zu generieren. Direkte und indirekte Verfahren sind umfasst. Die Einbringung kann zu einer vorübergehenden (transienten) Präsenz einer "anti-NADPH-Oxidase"-Verbindung (beispielsweise einer dsRNA) führen

40 oder aber auch zu einer dauerhaften (stabilen).

Gemäß der unterschiedlichen Natur der oben beschriebenen Ansätze kann die "anti-NADPH-Oxidase"-Verbindung ihre Funktion direkt ausüben (zum Beispiel durch Insertion in ein endogenes

45 NADPH-Oxidase Gen). Die Funktion kann aber auch indirekt nach Transkription in eine RNA (zum Beispiel bei antisense Ansätzen) oder nach Transkription und Translation in ein Protein

(z.B. Bindungsfaktoren) ausgeübt werden. Sowohl direkte als auch indirekt wirkende "anti-NADPH-Oxidase"-Verbindungen sind erfindungsgemäß umfasst.

- 5 Einführen umfasst beispielsweise Verfahren wie Transfektion, Transduktion oder Transformation.

- "Anti-NADPH-Oxidase" Verbindungen umfasst somit beispielsweise auch rekombinante Expressionskonstrukte, die eine Expression
- 10 (d.h. Transkription und ggf. Translation) beispielsweise einer NADPH-Oxidase-dsRNA oder einer NADPH-Oxidase "antisense"-RNA - bevorzugt in einer Pflanze oder einem Teil, Gewebe, Organ oder Samen derselben - bedingen.
- 15 In besagten Expressionskonstrukten steht ein Nukleinsäuremolekül, dessen Expression (Transkription und ggf. Translation) eine "anti-NADPH-Oxidase"-Verbindung generiert, bevorzugt in funktio-
- 20 in einem Organismus, bevorzugt in Pflanzen, gewährleistet. Soll das Expressionskonstrukt direkt in die Pflanze eingeführt und die "anti-NADPH-Oxidase"-Verbindung (beispielsweise die NADPH-Oxidase dsRNA) dort in planta erzeugt werden, so sind pflanzenspezifische genetische Kontrollelemente (beispiels-
- 25 weise Promotoren) bevorzugt. Die "anti-NADPH-Oxidase"-Verbindung kann jedoch auch in anderen Organismen oder in vitro erzeugt und dann in die Pflanze eingebracht werden (wie in Beispiel 6 und 7 beschrieben). In diesem sind all prokaryotischen oder eukaryotischen genetischen Kontrollelemente (beispielsweise
- 30 Promotoren) bevorzugt, die die Expression in den jeweils für die Herstellung gewählten Organismus erlauben.

- Unter einer funktionellen Verknüpfung versteht man zum Beispiel die sequentielle Anordnung eines Promotors mit der zu expri-
- 35 mierenden Nukleinsäuresequenz (zum Beispiel einer "anti-NAox-Verbindung) und ggf. weiterer regulativer Elemente wie zum Beispiel einem Terminator derart, dass jedes der regulativen Elemente seine Funktion bei der transgenen Expression der Nukleinsäuresequenz, je nach Anordnung der Nukleinsäuresequenzen zu sense
- 40 oder anti-sense RNA, erfüllen kann. Dazu ist nicht unbedingt eine direkte Verknüpfung im chemischen Sinne erforderlich. Genetische Kontrollsequenzen, wie zum Beispiel Enhancer-Sequenzen, können ihre Funktion auch von weiter entfernten Positionen oder gar von anderen DNA-Molekülen aus auf die Zielsequenz ausüben. Bevor-
- 45 zugt sind Anordnungen, in denen die transgen zu exprimierende Nukleinsäuresequenz hinter der als Promoter fungierenden Sequenz positioniert wird, so dass beide Sequenzen kovalent miteinander

verbunden sind. Bevorzugt ist dabei der Abstand zwischen der Promotorsequenz und der transgen zu exprimierende Nukleinsäuresequenz geringer als 200 Basenpaare, besonders bevorzugt kleiner als 100 Basenpaare, ganz besonders bevorzugt kleiner als 50 Basenpaare.

- Die Herstellung einer funktionellen Verknüpfung als auch die Herstellung einer Expressionskassette kann mittels gängiger Rekombinations- und Klonierungstechniken realisiert werden,
- 10 wie sie beispielsweise in Maniatis T, Fritsch EF und Sambrook J (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor (NY), in Silhavy TJ, Berman ML und Enquist LW (1984) Experiments with Gene Fusions, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor (NY), in Ausubel FM et al. 15 (1987) Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience und bei Gelvin et al. (1990) In: Plant Molecular Biology Manual beschrieben sind. Zwischen beide Sequenzen können aber auch weitere Sequenzen positioniert werden, die zum Beispiel die Funktion eines Linkers mit bestimmten
- 20 Restriktionsenzymstichstellen oder eines Signalpeptides haben. Auch kann die Insertion von Sequenzen zur Expression von Fusionsproteinen führen. Bevorzugt kann die Expressionskassette, bestehend aus einer Verknüpfung von Promoter und zu exprimierender Nukleinsäuresequenz, integriert in einem Vektor vorliegen und
- 25 durch zum Beispiel Transformation in ein pflanzliches Genom insertiert werden.

- Unter einer Expressionskassette sind aber auch solche Konstruktionen zu verstehen, bei denen ein Promoter - zum Beispiel
- 30 durch eine homologe Rekombination - hinter ein endogenes NADPH-Oxidase-Gen platziert wird, und durch Expression einer antisense NADPH-Oxidase-RNA die erfindungsgemäße Verminderung eines NADPH-Oxidase-Proteins bewirkt wird. Analog kann auch eine "anti-NADPH-Oxidase" Verbindung (zum Beispiel eine Nukleinsäuresequenz
- 35 kodierend für eines NADPH-Oxidase dsRNA oder eine NADPH-Oxidase antisense RNA) derart hinter einen endogenen Promotor platziert werden, dass der gleiche Effekt auftritt. Beide Ansätze führen zu Expressionskassetten im Sinne der Erfindung.
- 40 Pflanzenspezifische Promotoren meint grundsätzlich jeden Promotor, der die Expression von Genen, insbesondere Fremdgenen, in Pflanzen oder Pflanzenteilen, -zellen, -geweben, -kulturen steuern kann. Dabei kann die Expression beispielsweise konstitutiv, induzierbar oder entwicklungsabhängig sein.

Bevorzugt sind:

a) Konstitutive Promotoren

- 5 Bevorzugt sind Vektoren, die eine konstitutive Expression in Pflanzen ermöglichen (Benfey et al. (1989) EMBO J 8:2195-2202). "Konstitutiver" Promotor meint solche Promotoren, die eine Expression in zahlreichen, bevorzugt allen, Geweben über einen größeren Zeitraum der Pflanzenentwicklung, bevorzugt zu allen
- 10 Zeitpunkten der Pflanzenentwicklung, gewährleisten. Vorzugsweise verwendet man insbesondere einen pflanzlichen Promotor oder einen Promotor, der einem Pflanzenvirus entstammt. Insbesondere bevorzugt ist der Promotor des 35S-Transkriptes des CaMV Blumenkohl-mosaikvirus (Franck et al. (1980) Cell 21:285-294; Odell et al. (1985) Nature 313:810-812; Shewmaker et al. (1985) Virology 140:281-288; Gardner et al. (1986) Plant Mol Biol 6:221-228) oder der 19S CaMV Promotor (US 5,352,605; WO 84/02913; Benfey et al. (1989) EMBO J 8:2195-2202). Ein weiterer geeigneter konstitutiver Promotor ist der "Rubisco small subunit (SSU)"-
- 20 Promotor (US 4,962,028), der LeguminB-Promotor (GenBank Acc.-Nr. X03677), der Promotor der Nopalinsynthase aus Agrobacterium, der TR-Doppelpromotor, der OCS (Octopin Synthase) Promotor aus Agrobacterium, der Ubiquitin Promotor (Holtorf S et al. (1995) Plant Mol Biol 29:637-649), den Ubiquitin 1 Promotor (Christensen et al. (1992) Plant Mol Biol 18:675-689; Bruce et al. (1989) Proc Natl Acad Sci USA 86:9692-9696), den SmaS Promotor, den Cinnamyl-alkoholdehydrogenase-Promotor (US 5,683,439), die Promotoren der ATPase Untereinheiten oder der Promotor eines prolinreichen Proteins aus Weizen (WO 91/13991), sowie weitere Promotoren von
- 30 Genen, deren konstitutive Expression in Pflanzen dem Fachmann bekannt ist. Als konstitutiver Promotor insbesondere bevorzugt ist der Promotor des Nitrilase-1 (nit1) Gens aus A. thaliana (GenBank Acc.-No.: Y07648.2, Nukleotide 2456-4340, Hillebrand et al. (1996) Gene 170:197-200).

35

b) Gewebespezifische Promotoren

Bevorzugt sind ferner Promotoren mit Spezifitäten für die Antheren, Ovarien, Blüten, Blätter, Stengel, Wurzeln und Samen.

40

Samenspezifische Promotoren umfassen zum Beispiel den Promotor des Phaseolins (US 5,504,200; Bustos MM et al. (1989) Plant Cell 1(9):839-53), des 2S Albumins (Joseffson LG et al. (1987) J Biol Chem 262:12196-12201), des Legumins (Shirsat A et al. (1989)

- 45 Mol Gen Genet 215(2): 326-331), des USP (unknown seed protein; Bäumlein H et al. (1991) Mol Gen Genet 225(3):459-67), des Napin (US 5,608,152; Stalberg K et al. (1996) L Planta 199:515-519),

des Saccharosebindeproteins (WO 00/26388), des Legumin B4 (LeB4; Bäumlein H et al. (1991) Mol Gen Genet 225: 121-128; Bäumlein et al. (1992) Plant Journal 2(2):233-9; Fiedler U et al. (1995) Biotechnology (NY) 13(10):1090f), des Oleosin aus Arabidopsis 5 (WO 98/45461) und des Bce4 aus Brassica (WO 91/13980). Weitere geeignete samenspezifische Promotoren sind die der Gene kodierend für das "High Molecular Weight Glutenin" (HMWG), Gliadin, Verzweigungsenzym, ADP Glucose Pyrophosphatase (AGPase) oder die Stärkesynthase. Bevorzugt sind ferner Promotoren, die eine samen- 10 spezifische Expression in Monokotyledonen wie Mais, Gerste, Weizen, Roggen, Reis etc. erlauben. Vorteilhaft eingesetzt werden können der Promoter des lpt2- oder lpt1-Gen (WO 95/15389, WO 95/23230) oder die Promotoren beschrieben in WO 99/16890 (Promotoren des Hordein-Gens, des Glutelin-Gens, des Oryzin-Gens, 15 des Prolamin-Gens, des Gliadin-Gens, des Glutelin-Gens, des Zein-Gens, des Kasirin-Gens oder des Secalin-Gens).

Knollen-, Speicherwurzel- oder Wurzel-spezifische Promotoren umfassen beispielsweise den Patatin Promotor Klasse I (B33) und 20 den Promotor des Cathepsin D Inhibitors aus Kartoffel.

Blattspezifische Promotoren umfassen beispielsweise den Promotor der cytosolischen FBPase aus Kartoffel (WO 97/05900), den SSU Promotor (small subunit) der Rubisco (Ribulose-1,5-bisphosphat- 25 carboxylase) oder den ST-LSI Promotor aus Kartoffel (Stockhaus et al. (1989) EMBO J 8:2445-2451). Ganz besonders bevorzugt sind Epidermis-spezifische Promotoren, wie beispielsweise der Promotor des OXLP-Gens ("Oxalat-Oxidase like protein"; Wei et al. (1998) Plant Mol. Biol. 36:101-112).

30

Blütenspezifische Promotoren umfassen beispielsweise den Phytoen Synthase Promotor (WO 92/16635) oder den Promotor des P-rr Gens (WO 98/22593).

35 Antheren-spezifische Promotoren umfassen beispielsweise den 5126-Promotor (US 5,689,049, US 5,689,051), den glob-1 Promotor und den  $\gamma$ -Zein Promotor.

c) Chemisch induzierbare Promotoren

40

Die Expressionskassetten können auch einen chemisch induzierbaren Promotor enthalten (Übersichtsartikel: Gatz et al. (1997) Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 48:89-108), durch den die Expression des exogenen Gens in der Pflanze zu einem bestimmten 45 Zeitpunkt gesteuert werden kann. Beispielhaft seien zu nennen der PRP1 Promotor (Ward et al. (1993) Plant Mol Biol 22:361-366), ein durch Salicylsäure induzierbarer Promotor (WO 95/19443), ein

durch Benzolsulfonamid-induzierbarer Promotor (EP 0 388 186), ein durch Tetrazyklin-induzierbarer Promotor (Gatz et al. (1992) Plant J 2:397-404), ein durch Abscisinsäure induzierbarer Promotor (EP 0 335 528) bzw. ein durch Ethanol- oder Cyclo-  
5 hexanon-induzierbarer Promotor (WO 93/21334).

d) Stress- oder Pathogen-induzierbare Promotoren

- Ferner sind Promotoren bevorzugt, die durch biotischen oder  
10 abiotischen Stress induziert werden wie beispielsweise der pathogen-induzierbare Promotor des PRP1-Gens (bzw. *gst1* Promotor) z.B. aus Kartoffel (WO 96/28561; Ward et al. (1993) Plant Mol Biol 22:361- 366), der hitzeinduzierbare hsp70- oder hsp80-Promoter aus Tomate (US 5,187,267), der kälteinduzierbare alpha-Amylase  
15 Promoter aus der Kartoffel (WO 96/12814) oder der licht-induzierbare PPDK Promotor. Weitere pathogen-induzierbare Promotoren umfassen den Flachs *Fis1*-Promotor (WO 96/34949), den Vst1-Promotor (Schubert et al. (1997) Plant Mol Biol 34:417-426) sowie den EAS4 Sesquiterpene-Cyclase-Promotor aus Tabak (US 6,100,451).  
20 Pathogen-induzierbare Promotoren umfassen ferner die Promotoren von Genen, die infolge eines Pathogenbefalls induziert werden, wie beispielsweise Promotoren der Gene von PR-Proteinen, SAR-Proteinen,  $\beta$ -1,3-Glucanase, Chitinase usw. (beispielsweise Redolfi  
25 et al. (1983) Neth J Plant Pathol 89:245-254; Uknes, et al. (1992) Plant Cell 4:645-656; Van Loon (1985) Plant Mol Biol 4:111-116; Marineau et al. (1987) Plant Mol Biol 9:335-342; Matton et al. (1987) Molecular Plant-Microbe Interactions 2:325-342; Somssich et al. (1986) Proc Natl Acad Sci USA  
30 83:2427-2430; Somssich et al. (1988) Mol Gen Genetics 2:93-98; Chen et al. (1996) Plant J 10:955-966; Zhang and Sing (1994) Proc Natl Acad Sci USA 91:2507-2511; Warner, et al. (1993) Plant J 3:191-201; Siebertz et al. (1989) Plant Cell 1:961-968(1989).  
35 Umfasst sind auch verwundungs-induzierbare Promotoren wie der des *pinII* Gens (EP-A 0 375 091; Ryan (1990) Ann Rev Phytopath 28:425-449; Duan et al. (1996) Nat Biotech 14:494-498), des *wun1*- und *wun2*-Gens (US 5,428,148), des *win1*- und *win2*-Gens (Stanford et al. (1989) Mol Gen Genet 215:200-208), des Systemin-Gens  
40 (McGurl et al. (1992) Science 225:1570-1573), des WIP1-Gens (Rohmeier et al. (1993) Plant Mol Biol 22:783-792; Eckelkamp et al. (1993) FEBS Letters 323:73-76), des MPI-Gens (Corderok et al. (1994) Plant J 6(2):141-150) und dergleichen.  
45 Eine Quelle für weitere pathogen-induzierbare Promotoren stellt die PR-Genfamilie dar. Eine Reihe von Elementen in diesen Promotoren haben sich als vorteilhaft erwiesen. So vermittelt die

## 51

Region -364 bis -288 im Promotor von PR-2d Salicylat-Spezifität (Buchel et al. (1996) Plant Mol Biol 30, 493-504). Die Sequenz 5'-TCATCTTCTT-3' taucht im Promotor der Gersten  $\beta$ -1,3-Glucanase und in mehr als 30 weiteren stress-induzierten Genen wiederholt 5 auf. Diese Region bindet in Tabak ein nukleäres Protein, dessen Abundanz durch Salicylat erhöht wird. Die PR-1-Promotoren aus Tabak und Arabidopsis (EP-A 0 332 104, WO 98/03536) eignen sich ebenfalls als pathogen-induzierbare Promotoren. Bevorzugt, da besonders spezifisch durch Pathogen-induziert, sind die "acidic 10 PR-5"-(aPR5)-Promotoren aus Gerste (Schweizer et al. (1997) Plant Physiol 114:79-88) und Weizen (Rebmann et al. (1991) Plant Mol Biol 16:329-331). aPR5-Proteine akkumulieren in ca. 4 bis 6 Stunden nach Pathogenbefall und zeigen nur eine sehr geringe Hintergrundexpression (WO 99/66057). Ein Ansatz, um eine erhöhte 15 pathogen-induzierte Spezifität zu erreichen, bildet die Herstellung synthetischer Promotoren aus Kombinationen von bekannten pathogen-responsiven Elementen (Rushton et al. (2002) Plant Cell 14, 749-762; WO 00/01830; WO 99/66057). Weitere pathogen-induzierbare Promotoren aus verschiedenen Arten sind dem 20 Fachmann bekannt (EP-A 1 165 794; EP-A 1 062 356; EP-A 1 041 148; EP-A 1 032 684;

## e) Entwicklungsabhängige Promotoren

25 Weitere geeignete Promotoren sind beispielsweise fruchtreifungs-spezifische Promotoren, wie beispielsweise der fruchtreifungs-spezifische Promotor aus Tomate (WO 94/21794, EP 409 625). Entwicklungsabhängige Promotoren schließt zum Teil die gewebe-spezifischen Promotoren ein, da die Ausbildung einzelner Gewebe 30 naturgemäß entwicklungsabhängig erfolgt.

Besonders bevorzugt sind konstitutive, sowie Blatt und/oder Stengel-spezifische, pathogen-induzierbare und epidermis-spezifische Promotoren, wobei pathogen-induzierbar und epidermis- 35 spezifische Promotoren am meisten bevorzugt sind.

Es können ferner weitere Promotoren funktionell mit der zu exprimierenden Nukleinsäuresequenz verknüpft sein, die eine Expression in weiteren Pflanzengeweben oder in anderen 40 Organismen, wie zum Beispiel *E.coli* Bakterien ermöglichen. Als Pflanzen Promotoren kommen im Prinzip alle oben beschriebenen Promotoren in Frage.

Die in den erfindungsgemäßen Expressionskassetten oder Vektoren 45 enthaltenen Nukleinsäuresequenzen können mit weiteren genetischen Kontrollsequenzen neben einem Promoter funktionell verknüpft sein. Der Begriff der genetischen Kontrollsequenzen ist breit

- zu verstehen und meint all solche Sequenzen, die einen Einfluss auf das Zustandekommen oder die Funktion der erfindungsgemäßen Expressionskassette haben. Genetische Kontrollsequenzen modifizieren zum Beispiel die Transkription und Translation in
- 5 prokaryotischen oder eukaryotischen Organismen. Vorzugsweise umfassen die erfindungsgemäßen Expressionskassetten 5'-stromaufwärts von der jeweiligen transgen zu exprimierenden Nukleinsäuresequenz den Promoter mit Spezifität für die embryonale Epidermis und/oder die Blüte und 3'-stromabwärts eine Terminator-
- 10 sequenz als zusätzliche genetische Kontrollsequenz, sowie gegebenenfalls weitere übliche regulative Elemente, und zwar jeweils funktionell verknüpft mit der transgen zu exprimierenden Nukleinsäuresequenz.
- 15 Genetische Kontrollsequenzen umfassen auch weitere Promotoren, Promotorelemente oder Minimalpromotoren, die die expressionssteuernden Eigenschaften modifizieren können. So kann durch genetische Kontrollsequenzen zum Beispiel die gewebespezifische Expression zusätzlich abhängig von bestimmten Stressfaktoren
- 20 erfolgen. Entsprechende Elemente sind zum Beispiel für Wasserstress, Abscisinsäure (Lam E und Chua NH, J Biol Chem 1991; 266(26): 17131 -17135) und Hitzestress (Schoffl F et al., Molecular & General Genetics 217(2-3):246-53, 1989) beschrieben.
- 25 Prinzipiell können alle natürlichen Promotoren mit ihren Regulationssequenzen wie die oben genannten für das erfindungsgemäße Verfahren verwendet werden. Darüberhinaus können auch synthetische Promotoren vorteilhaft verwendet werden.
- 30 Genetische Kontrollsequenzen umfassen ferner auch die 5'-untranslatierte Regionen, Introns oder nichtkodierende 3'-Region von Genen wie beispielsweise das Actin-1 Intron, oder die Adh1-S Introns 1, 2 und 6 (allgemein: The Maize Handbook, Chapter 116, Freeling and Walbot, Eds., Springer, New York (1994)). Es ist
- 35 gezeigt worden, dass diese eine signifikante Funktionen bei der Regulation der Genexpression spielen können. So wurde gezeigt, dass 5'-untranslatierte Sequenzen die transiente Expression heterologer Gene verstärken können. Beispielfür Translationsverstärker sei die 5'-Leadersequenz aus dem Tabak-
- 40 Mosaik-Virus zu nennen (Gallie et al. (1987) Nucl Acids Res 15:8693-8711) und dergleichen. Sie können ferner die Gewebespezifität fördern (Rouster J et al. (1998) Plant J 15:435-440).

- Die Expressionskassette kann vorteilhafterweise eine oder mehrere
- 45 sogenannte "enhancer Sequenzen" funktionell verknüpft mit dem Promoter enthalten, die eine erhöhte transgene Expression der Nukleinsäuresequenz ermöglichen. Auch am 3'-Ende der transgen

zu exprimierenden Nukleinsäuresequenzen können zusätzliche vorteilhafte Sequenzen inseriert werden, wie weitere regulatorische Elemente oder Terminatoren. Die transgen zu exprimierenden Nukleinsäuresequenzen können in einer oder mehreren Kopien im Genkonstrukt enthalten sein.

Als Kontrollsequenzen geeignete Polyadenylierungssignale sind pflanzliche Polyadenylierungssignale, vorzugsweise solche, die im wesentlichen T-DNA Polyadenylierungssignale aus *Agrobacterium tumefaciens*, insbesondere des Gens 3 der T-DNA (Octopin Synthase) des Ti-Plasmids pTiACHS entsprechen (Gielen et al. (1984) EMBO J 3:835 ff) oder funktionelle Äquivalente davon. Beispiele für besonders geeignete Terminatorsequenzen sind der OCS (Octopin-Synthase)-Terminator und der NOS (Nopalinsynthase)-Terminator.

Als Kontrollsequenzen sind weiterhin solche zu verstehen, die eine homologe Rekombination bzw. Insertion in das Genom eines Wirtsorganismus ermöglichen oder die Entfernung aus dem Genom erlauben. Bei der homologen Rekombination kann zum Beispiel der natürliche Promoter eines bestimmten Gens gegen einen Promoter mit Spezifität für die embryonale Epidermis und/oder die Blüte ausgetauscht werden. Methoden wie die cre/lox-Technologie erlauben eine gewebespezifische, unter Umständen induzierbare Entfernung der Expressionskassette aus dem Genom des Wirtsorganismus (Sauer B (1998) Methods. 14(4):381-92). Hier werden bestimmte flankierende Sequenzen dem Zielgen angefügt (lox-Sequenzen), die später eine Entfernung mittels der cre-Rekombinase ermöglichen.

Eine Expressionskassette und die von ihr abgeleiteten Vektoren können weitere Funktionselemente enthalten. Der Begriff Funktionselement ist breit zu verstehen und meint all solche Elemente, die einen Einfluss auf Herstellung, Vermehrung oder Funktion der erfindungsgemäßen Expressionskassetten, Vektoren oder transgenen Organismen haben. Beispielhaft aber nicht einschränkend seien zu nennen:

- a) Selektionsmarker, die eine Resistenz gegen einen Metabolismusinhibitor wie 2-Desoxyglucose-6-phosphat (WO 98/45456), Antibiotika oder Biozide, bevorzugt Herbizide, wie zum Beispiel Kanamycin, G 418, Bleomycin, Hygromycin, oder Phosphinotricin etc. verleihen. Besonders bevorzugte Selektionsmarker sind solche die eine Resistenz gegen Herbizide verleihen. Beispielhaft seien genannt: DNA Sequenzen, die für Phosphinothricinacetyltransferasen (PAT) kodieren und Glutaminsynthaseinhibitoren inaktivieren (bar und pat Gen), 5-Enolpyruvylshikimat-3-phosphatsynthasegene (EPSP Synthasegene), die eine Resistenz gegen Glyphosat® (N-(phosphono-

- methylylglycin) verleihen, das für das Glyphosat® degradierende Enzyme kodierende gox Gen (Glyphosatoxidoreduktase), das deh Gen (kodierend für eine Dehalogenase, die Dalapon inaktiviert), Sulfonylurea- und Imidazolinon inaktivierende Acetolactatsynthasen sowie bxn Gene, die für Bromoxynil degradierende Nitrilaseenzyme kodieren, das aasa-Gen, das eine Resistenz gegen das Antibiotikum Apectinomycin verleiht, das Streptomycinphosphotransferase (SPT) Gen, das eine Resistenz gegen Streptomycin gewährt, das Neomycinphosphotransferase (NPTIII) Gen, das eine Resistenz gegen Kanamycin oder Geneticidin verleiht, das Hygromycinphosphotransferase (HPT) Gen, das eine Resistenz gegen Hygromycin vermittelt, das Acetolactatsynthase Gen (ALS), das eine Resistenz gegen Sulfonylharnstoff-Herbizide verleiht (z.B. mutierte ALS-Varianten mit z.B. der S4 und/oder Hra Mutation).
- b) Reportergene, die für leicht quantifizierbare Proteine kodieren und über Eigenfarbe oder Enzymaktivität eine Bewertung der Transformationseffizienz oder des Expressionsortes oder -zeitpunktes gewährleisten. Ganz besonders bevorzugt sind dabei Reporter-Proteine (Schenborn E, Groskreutz D. Mol Biotechnol. 1999; 13(1):29-44) wie das "green fluorescence protein" (GFP) (Sheen et al. (1995) Plant Journal 8(5):777-784; Haseloff et al. (1997) Proc Natl Acad Sci USA 94(6):2122-2127; Reichel et al. (1996) Proc Natl Acad Sci USA 93(12):5888-5893; Tian et al. (1997) Plant Cell Rep 16:267-271; WO 97/41228; Chui WL et al. (1996) Curr Biol 6:325-330; Leffel SM et al. (1997) Biotechniques. 23(5):912-8), die Chloramphenicoltransferase, eine Luziferase (Ow et al. (1986) Science 234:856-859; Millar et al. (1992) Plant Mol Biol Rep 10:324-414), das Aequorin (Prasher et al. (1985) Biochem Biophys Res Commun 126(3):1259-1268), die  $\beta$ -Galactosidase, R-Locus Gen (kodieren ein Protein, das die Produktion von Anthocyaninpigmenten (rote Färbung) in pflanzlichen Gewebe reguliert und so eine direkte Analyse der Promotoraktivität ohne Zugabe zusätzlicher Hilfsstoffe oder chromogener Substrate ermöglicht; Dellaporta et al., In: Chromosome Structure and Function: Impact of New Concepts, 18th Stadler Genetics Symposium, 11:263-282, 1988), ganz besonders bevorzugt ist die  $\beta$ -Glucuronidase (Jefferson et al., EMBO J. 1987, 6, 3901-3907).
- c) Replikationsursprünge, die eine Vermehrung der erfindungsgemäßen Expressionskassetten oder Vektoren in zum Beispiel E.coli gewährleisten. Beispielhaft seien genannt ORI (origin of DNA replication), der pBR322 ori oder der P15A ori

(Sambrook et al.: Molecular Cloning. A Laboratory Manual, 2<sup>nd</sup> ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989).

- 5 d) Elemente, die für eine Agrobakterium vermittelte Pflanzen-transformation erforderlich sind, wie zum Beispiel die rechte oder linke Begrenzung der T-DNA oder die vir-Region.

Die Einführung einer erfindungsgemäßen Expressionskassette in  
10 einen Organismus oder Zellen, Geweben, Organe, Teile bzw. Samen desselben (bevorzugt in Pflanzen bzw. pflanzliche Zellen, Gewebe, Organe, Teile oder Samen), kann vorteilhaft unter Verwendung von Vektoren realisiert werden, in denen die Expressionskassetten enthalten sind. Die Expressionskassette kann in den Vektor (zum  
15 Beispiel ein Plasmid) über eine geeignete Restriktionsschnittstelle eingeführt werden. Das entstandene Plasmid wird zunächst in E.coli eingeführt. Korrekt transformierte E.coli werden selektioniert, gezüchtet und das rekombinante Plasmid mit dem Fachmann geläufigen Methoden gewonnen. Restriktionsanalyse  
20 und Sequenzierung können dazu dienen, den Klonierungsschritt zu überprüfen.

Vektoren können beispielhaft Plasmide, Cosmide, Phagen, Viren oder auch Agrobacterien sein. In einer vorteilhaften Ausführungs-  
25 form wird die Einführung der Expressionskassette mittels Plasmidvektoren realisiert. Bevorzugt sind solche Vektoren, die eine stabile Integration der Expressionskassette in das Wirtsgenom ermöglichen.

30 Die Herstellung eines transformierten Organismus (bzw. einer transformierten Zelle oder Gewebes) erfordert, dass die entsprechende DNA, RNA oder Protein in die entsprechende Wirtszelle eingebracht wird.

35 Für diesen Vorgang, der als Transformation (oder Transduktion bzw. Transfektion) bezeichnet wird, steht eine Vielzahl von Methoden zur Verfügung (Keown et al. (1990) Methods in Enzymology 185:527-537). So kann die DNA oder RNA beispielhaft direkt durch Mikroinjektion oder durch Bombardierung mit DNA-beschichteten  
40 Mikropartikeln eingeführt werden. Auch kann die Zelle chemisch, zum Beispiel mit Polyethylenglycol, permeabilisiert werden, so dass die DNA durch Diffusion in die Zelle gelangen kann. Die DNA kann auch durch Protoplastenfusion mit anderen DNA-enthaltenden Einheiten wie Minicells, Zellen, Lysosomen oder Liposomen er-  
45 folgen. Elektroporation ist eine weitere geeignete Methode zur Einführung von DNA, bei der die Zellen reversibel durch einen elektrischen Impuls permeabilisiert werden. Entsprechende Ver-

fahren sind beschrieben (beispielsweise bei Bilang et al. (1991) Gene 100:247-250; Scheid et al. (1991) Mol Gen Genet 228:104-112; Guerche et al. (1987) Plant Science 52:111-116; Neuhauser et al. (1987) Theor Appl Genet 75:30-36; Klein et al. (1987) Nature 327:70-73 ; Howell et al. (1980) Science 208:1265; Horsch et al. (1985) Science 227:1229-1231 ; DeBlock et al. (1989) Plant Physiology 91:694-701; Methods for Plant Molecular Biology (Weissbach and Weissbach, eds.) Academic Press Inc. (1988); and Methods in Plant Molecular Biology (Schuler and Zielinski, eds.) Academic Press Inc. (1989)).

Bei Pflanzen werden dabei die beschriebenen Methoden zur Transformation und Regeneration von Pflanzen aus Pflanzengewebe oder Pflanzenzellen zur transienten oder stabilen Transformation genutzt. Geeignete Methoden sind vor allem die Protoplastentransformation durch Polyethylenglykol-induzierte DNA-Aufnahme, das biolistische Verfahren mit der Genkanone, die sogenannte "particle bombardment" Methode, die Elektroporation, die Inkubation trockener Embryonen in DNA-haltiger Lösung und die Mikroinjektion.

Neben diesen "direkten" Transformationstechniken kann eine Transformation auch durch bakterielle Infektion mittels *Agrobacterium tumefaciens* oder *Agrobacterium rhizogenes* durchgeführt werden. Die *Agrobacterium*-vermittelte Transformation ist am besten für dicotyledone Pflanzenzellen geeignet. Die Verfahren sind beispielsweise beschrieben bei Horsch et al. (1985) Science 225:1229f).

Werden *Agrobacterien* verwendet, so ist die Expressionskassette in spezielle Plasmide zu integrieren, entweder in einen Zwischenvektor (englisch: shuttle or intermediate vector) oder einen binären Vektor. Wird ein Ti oder Ri Plasmid zur Transformation verwendet, ist zumindest die rechte Begrenzung, meistens jedoch die rechte und die linke Begrenzung der Ti oder Ri Plasmid T-DNA als flankierende Region mit der einzuführenden Expressionskassette verbunden.

Bevorzugt werden binäre Vektoren verwendet. Binäre Vektoren können sowohl in *E. coli* als auch in *Agrobacterium* replizieren. Sie enthalten in der Regel ein Selektionsmarkergen zur Selektion transformierter pflanzlicher Organismen (s.o.) und einen Linker oder Polylinker flankiert von der rechten und linken T-DNA Begrenzungssequenz. Sie können direkt in *Agrobacterium* transformiert werden (Holsters et al. (1978) Mol Gen Genet 163:181-187). Außerhalb der T-DNA Region können Elemente wie ein Selektionsmarkergen zur Selektion transformierter Agro-

bakteria oder E.coli (z.B. nptIII) umfasst sein. Das in diesem Fall als Wirtsorganismus fungierende Agrobacterium sollte bereits ein Plasmid mit der vir-Region enthalten. Diese ist für die Übertragung der T-DNA auf die pflanzliche Zelle erforderlich. Ein  
5 so transformiertes Agrobacterium kann zur Transformation pflanzlicher Zellen verwendet werden. Die Verwendung von T-DNA zur Transformation pflanzlicher Zellen ist intensiv untersucht und beschrieben (EP 120 516; Hoekema, In: The Binary Plant Vector System, Offsetdrukkerij Kanters B.V., Alblasterdam, Chapter V;  
10 An et al. (1985) EMBO J 4:277-287). Verschiedene binäre Vektoren sind bekannt und teilweise kommerziell erhältlich wie zum Beispiel pBI101.2 oder pBIN19 (Clontech Laboratories, Inc. USA).

Weitere zur Expression in Pflanzen geeignete Promotoren sind  
15 beschrieben (Rogers et al. (1987) Meth in Enzymol 153:253-277; Schardl et al. (1987) Gene 61:1-11; Berger et al. (1989) Proc Natl Acad Sci USA 86:8402-8406).

Direkte Transformationstechniken eignen sich für jeden Organismus  
20 und Zelltyp eignen.

Im Falle von Injektion oder Elektroporation von DNA bzw. RNA in pflanzliche Zellen sind keine besonderen Anforderungen an das verwendete Plasmid gestellt. Einfache Plasmide wie die  
25 der pUC-Reihe können verwendet werden. Sollen vollständige Pflanzen aus den transformierten Zellen regeneriert werden, so ist es erforderlich, dass sich auf dem Plasmid ein zusätzliches selektionierbares Markergen befindet.

30 Stabil transformierte Zellen d.h. solche, die die eingeführte DNA integriert in die DNA der Wirtszelle enthalten, können von untransformierten selektioniert werden, wenn ein selektionierbarer Marker Bestandteil der eingeführten DNA ist. Als Marker kann beispielhaft jedes Gen fungieren, das eine Resistenz  
35 gegen ein Biozid (zum Beispiel ein Antibiotikum, Herbizid oder ein Metabolismusinhibitor wie 2-Desoxyglucose-6-phosphat WO 98/45456) verleiht(s.o.). Transformierte Zellen, die ein solches Markergen exprimieren, sind in der Lage, in der Gegenwart von Konzentrationen eines entsprechenden Antibiotikums oder  
40 Herbizides zu überleben, die einen untransformierten Wildtyp abtöten. Beispiel sind oben genannt und umfassen bevorzugt das bar Gen, das Resistenz gegen das Herbizid Phosphinotricin verleiht (Rathore KS et al. (1993) Plant Mol Biol 21(5):871-884), das nptII Gen, das Resistenz gegen Kanamycin verleiht, das hpt Gen,  
45 das Resistenz gegen Hygromycin verleiht, oder das EPSP-Gen, das Resistenz gegen das Herbizid Glyphosat verleiht. Der Selektionsmarker erlaubt die Selektion von transformierten Zellen von

untransformierten (McCormick et al. (1986) Plant Cell Reports 5:81-84). Die erhaltenen Pflanzen können in üblicher Weise gezüchtet und gekreuzt werden. Zwei oder mehr Generationen sollten kultiviert werden, um sicherzustellen, dass die genomische Integration stabil und vererblich ist.

Die oben genannten Verfahren sind beispielsweise beschrieben in Jenes B et al. (1993) Techniques for Gene Transfer, in: Transgenic Plants, Vol. 1, Engineering and Utilization, herausgegeben von SD Kung und R Wu, Academic Press, S. 128-143 sowie in Potrykus (1991) Annu Rev Plant Physiol Plant Molec Biol 42:205-225). Vorzugsweise wird das zu exprimierende Konstrukt in einen Vektor kloniert, der geeignet ist, Agrobacterium tumefaciens zu transformieren, beispielsweise pBin19 (Bevan et al. (1984) Nucl Acids Res 12:8711f).

Sobald eine transformierte Pflanzenzelle hergestellt wurde, kann eine vollständige Pflanze unter Verwendung von dem Fachmann bekannten Verfahren erhalten werden. Hierbei geht man beispielhaft von Kalluskulturen aus. Aus diesen noch undifferenzierten Zellmassen kann die Bildung von Spross und Wurzel in bekannter Weise induziert werden. Die erhaltenen Sprösslinge können ausgepflanzt und gezüchtet werden.

Dem Fachmann sind auch Verfahren bekannt, um aus Pflanzenzellen, Pflanzenteile und ganze Pflanzen zu regenerieren. Beispielsweise werden hierzu Verfahren beschrieben von Fennell et al. (1992) Plant Cell Rep. 11: 567-570; Stoeger et al (1995) Plant Cell Rep. 14:273-278; Jahne et al. (1994) Theor Appl Genet 89:525-533 verwendet.

Das erfindungsgemäße Verfahren kann vorteilhaft mit weiteren Verfahren die eine Pathogenresistenz (beispielsweise gegen Insekten, Pilze, Bakterien, Nematoden etc.), Stressresistenz oder eine andere Verbesserung der pflanzlichen Eigenschaften bewirken kombiniert werden. Beispiele sind u.a. genannt bei Dunwell JM, Transgenic approaches to crop improvement, J Exp Bot. 2000;51 Spec No; Seite 487-96.

"Transgen" meint bezüglich zum Beispiel einer Nukleinsäuresequenz, einer Expressionskassette oder einem Vektor enthaltend besagte Nukleinsäuresequenz oder einem Organismus transformiert mit besagter Nukleinsäuresequenz, Expressionskassette oder Vektor alle solche durch gentechnische Methoden zustandegewonnenen Konstruktionen, in denen sich entweder

- a) die NADPH-Oxidase Nukleinsäuresequenz, oder
- b) eine mit der NADPH-Oxidase Nukleinsäuresequenz funktionell verknüpfte genetische Kontrollsequenz, zum Beispiel ein Promotor, oder

- c) (a) und (b)

sich nicht in ihrer natürlichen, genetischen Umgebung befinden oder durch gentechnische Methoden modifiziert wurden, wobei die Modifikation beispielhaft eine Substitutionen, Additionen, Deletionen, Inversion oder Insertionen eines oder mehrerer Nukleotidreste sein kann. Natürliche genetische Umgebung meint den natürlichen chromosomalen Locus in dem Herkunftsorganismus oder das Vorliegen in einer genomischen Bibliothek. Im Fall einer genomischen Bibliothek ist die natürliche, genetische Umgebung der Nukleinsäuresequenz bevorzugt zumindest noch teilweise erhalten. Die Umgebung flankiert die Nukleinsäuresequenz zumindest an einer Seite und hat eine Sequenzlänge von mindestens 50 bp, bevorzugt mindestens 500 bp, besonders bevorzugt mindestens 1000 bp, ganz besonders bevorzugt mindestens 5000 bp. Eine natürlich vorkommende Expressionskassette - beispielsweise die natürlich vorkommende Kombination des NADPH-Oxidase-Promotors mit dem entsprechenden NADPH-Oxidase-Gen - wird zu einer transgenen Expressionskassette, wenn diese durch nicht-natürliche, synthetische ("künstliche") Verfahren wie beispielsweise einer Mutagenisierung geändert wird. Entsprechende Verfahren sind beschrieben (US 5,565,350; WO 00/15815; siehe auch oben).

Ein anderer Gegenstand der Erfindung betrifft transgene Organismen, transformiert mit wenigstens einer erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen, Expressionskassette oder einem erfindungsgemäßen Vektor, sowie Zellen, Zellkulturen, Gewebe, Teile - wie zum Beispiel bei pflanzlichen Organismen Blätter, Wurzeln usw. - oder Vermehrungsgut abgeleitet von solchen Organismen. Organismus ist breit zu verstehen und meint prokaryotische und eukaryotische Organismen, bevorzugt Bakterien, Hefen, Pilze, tierische und pflanzliche Organismen.

Bevorzugt sind

- a) Pilze, wie Aspergillus, Eremothecium, Trichoderma, Ashbya, Neurospora, Fusarium, Beauveria oder weitere in Indian Chem Eng. Section B. Vol 37, No 1,2 (1995) auf Seite 15, Tabelle 6 beschriebene Pilze. Besonders bevorzugt ist der filamentöse Hemiascomycet Ashbya gossypii oder Eremothecium ashbyii.

b) Hefen wie *Candida*, *Saccharomyces*, *Hansenula* oder *Pichia*, besonders bevorzugt sind *Saccharomyces cerevisiae* oder *Pichia pastoris* (ATCC Accession No. 201178),

5 c) Pflanzen gemäß der obengenannten Definition für "Pflanzen"

d) Vertebraten und Invertebraten. Besonders bevorzugte Vertebraten sind nicht-humane Säuger wie in Hund, Katze, Schaf, Ziege, Huhn, Maus, Ratte, Rind oder Pferd. Bevorzugte  
10 tierische Zellen umfassen CHO, COS, HEK293 Zellen. Bevorzugte Invertebraten umfassen Insektenzellen wie *Drosophila* S2 und *Spodoptera* Sf9 oder Sf21 Zellen,

e) prokaryontische Organismen wie gram-positive oder gram-negative Bakterien wie *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Corynebacterium*, *Brevibacterium*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Cyanobacter*, *Escherichia* (vor allem *Escherichia coli*), *Serratia*, *Staphylococcus*, *Aerobacter*, *Alcaligenes*, *Penicillium* oder *Klebsiella* genannt.  
15

20

Als transgene Organismen bevorzugte Wirts- oder Ausgangsorganismen sind vor allem Pflanzen gemäß der oben genannten Definition. Eingeschlossen sind im Rahmen der Erfindung alle Gattungen und Arten höherer und niedrigerer Pflanzen des

25 Pflanzenreiches. Eingeschlossen sind ferner die reifen Pflanzen, Saatgut, Sprossen und Keimlinge, sowie davon abgeleitete Teile, Vermehrungsgut und Kulturen, zum Beispiel Zellkulturen. Reife Pflanzen meint Pflanzen zu jedem beliebigen Entwicklungsstadium jenseits des Keimlings. Keimling meint eine junge, unreife

30 Pflanze in einem frühen Entwicklungsstadium. Insbesondere als Wirtsorganismen bevorzugte Pflanzen sind Pflanzen, auf die der erfindungsgemäße Verfahren zum Erzielen einer Pathogenresistenz gemäß oben genannten Kriterien angewendet werden kann. Ganz besonders bevorzugt sind monokotyle Pflanzen wie Weizen,

35 Hafer, Hirse, Gerste, Roggen, Mais, Reis, Buchweizen, Sorghum, Triticale, Dinkel, Leinsamen, Zuckerrohr, als diktyledone Kulturpflanzen wie Raps, Canola, Kresse, *Arabidopsis*, Kohlarten, Soja, Alfalfa, Erbse, Bohnengewächsen, Erdnuss, Kartoffel, Tabak, Tomate, Aubergine, Paprika, Sonnenblume, *Tagetes*, Salat,  
40 Calendula, Melone, Kürbis oder Zucchini.

Die Herstellung der transgenen Organismen kann mit den oben beschriebenen Verfahren zur Transformation oder Transfektion von Organismen realisiert werden.

## 61

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung betrifft die Verwendung der erfindungsgemäßen, transgenen Organismen und der von ihnen abgeleitete Zellen, Zellkulturen, Teile - wie zum Beispiel bei transgenen pflanzlichen Organismen Wurzeln, Blätter etc.-, und transgenes Vermehrungsgut wie Saaten oder Früchte, zur Herstellung von Nahrungs- oder Futtermitteln, Pharmazeutika oder Feinchemikalien.

Bevorzugt ist ferner ein Verfahren zur rekombinanten Herstellung von Pharmazeutika oder Feinchemikalien in Wirtsorganismen wobei ein Wirtsorganismus mit einer der oben beschriebenen Expressionskassetten transformiert wird und diese Expressionskassette ein oder mehrere Strukturgene enthält, die für die gewünschte Feinchemikalie kodieren oder die Biosynthese der gewünschten Feinchemikalie katalysieren, der transformierte Wirtsorganismus gezüchtet wird und die gewünschte Feinchemikalie aus dem Züchtungsmedium isoliert wird. Dieses Verfahren ist für Feinchemikalien wie Enzyme, Vitamine, Aminosäuren, Zucker, Fettsäuren, natürliche und synthetische Geschmacks-, Aroma- und Farbstoffe breit anwendbar. Besonders bevorzugt ist die Produktion von Tocopherolen und Tocotrienolen sowie Carotinoiden. Die Züchtung der transformierten Wirtsorganismen sowie die Isolierung aus den Wirtsorganismen bzw. aus dem Züchtungsmedium erfolgt mit dem Fachmann bekannten Verfahren. Die Produktion von Pharmazeutika, wie zum Beispiel Antikörpern oder Vakkzinen ist beschrieben bei Hood EE, Jilka JM (1999) Curr Opin Biotechnol 10(4):382-6; Ma JK, Vine ND (1999) Curr Top Microbiol Immunol 236:275-92.

## Sequenzen

1. SEQ ID NO: 1 Nukleinsäuresequenz kodierend für eine NADPH-Oxidase aus Gerste (*Hordeum vulgare*).
2. SEQ ID NO: 2 Aminosäuresequenz kodierend für eine NADPH-Oxidase aus Gerste (*Hordeum vulgare*).
3. SEQ ID NO: 3 Nukleinsäuresequenz kodierend für eine NADPH-Oxidase aus Reis (*Oryza sativa* var. *japonica*)
4. SEQ ID NO: 4 Aminosäuresequenz kodierend für eine NADPH-Oxidase aus Reis (*Oryza sativa* var. *japonica*)
5. SEQ ID NO: 5 Nukleinsäuresequenz kodierend für eine NADPH-Oxidase aus *Nicotiana tabacum*

## 62

6. SEQ ID NO: 6 Aminosäuresequenz kodierend für eine  
NADPH-Oxidase aus *Nicotiana tabacum*
- 5 7. SEQ ID NO: 7 Nukleinsäuresequenz kodierend für eine  
NADPH-Oxidase aus Kartoffel  
(*Solanum tuberosum*)
- 10 8. SEQ ID NO: 8 Aminosäuresequenz kodierend für eine  
NADPH-Oxidase aus Kartoffel  
(*Solanum tuberosum*)
- 15 9. SEQ ID NO: 9 Nukleinsäuresequenz kodierend für eine  
NADPH-Oxidase aus Tomate  
(*Lycopersicon esculentum*)
- 20 10. SEQ ID NO: 10 Aminosäuresequenz kodierend für eine  
NADPH-Oxidase aus NADPH-Oxidase aus Tomate  
(*Lycopersicon esculentum*)
- 25 11. SEQ ID NO: 11 Nukleinsäuresequenz kodierend für eine  
NADPH-Oxidase aus *Arabidopsis thaliana* (RbohF)
12. SEQ ID NO: 12 Aminosäuresequenz kodierend für eine  
NADPH-Oxidase aus NADPH-Oxidase *Arabidopsis*  
*thaliana* (RbohF)
- 30 13. SEQ ID NO: 13 Nukleinsäuresequenz kodierend für eine  
NADPH-Oxidase aus *Arabidopsis thaliana* (RbohD)
- 35 14. SEQ ID NO: 14 Aminosäuresequenz kodierend für eine  
NADPH-Oxidase aus NADPH-Oxidase *Arabidopsis*  
*thaliana* (RbohD)
15. SEQ ID NO: 15 Nukleinsäuresequenz kodierend für eine  
NADPH-Oxidase aus *Nicotiana tabacum* (rboh)
16. SEQ ID NO: 16 Aminosäuresequenz kodierend für eine  
NADPH-Oxidase aus *Nicotiana tabacum* (rboh)
- 40 17. SEQ ID NO: 17 Nukleinsäuresequenz kodierend für eine  
NADPH-Oxidase aus Reis  
(*Oryza sativa* var. *japonica*)
- 45 18. SEQ ID NO: 18 Aminosäuresequenz kodierend für eine  
NADPH-Oxidase aus Reis  
(*Oryza sativa* var. *japonica*)

## 63

19. SEQ ID NO: 19 Nukleinsäuresequenz kodierend für eine  
NADPH-Oxidase aus Arabidopsis thaliana (RbohC)
20. SEQ ID NO: 20 Aminosäuresequenz kodierend für eine  
NADPH-Oxidase aus Arabidopsis thaliana (RbohC)
21. SEQ ID NO: 21 Nukleinsäuresequenz kodierend für eine  
NADPH-Oxidase aus Arabidopsis thaliana (RbohA)
22. SEQ ID NO: 22 Aminosäuresequenz kodierend für eine  
NADPH-Oxidase aus Arabidopsis thaliana (RbohA)
23. SEQ ID NO: 23 Oligonukleotidprimer 5' NAOX  
5'-GARCAAGGCTCTTTTGATTG-3'
24. SEQ ID NO: 24 Oligonukleotidprimer 3' Naox  
5'-GAAATGCTCCTTATGGAATTC-3'

## Abbildungen

Fig. 1: "RNA Interference" mit pNAox-dsRNA vermindert die Penetrationseffizienz des Echten Gerstenmehltau BghA6 in Gerste.

Die relative Penetrationseffizienz (RPE) wurde in fünf individuellen Experimenten bei Inokulation mit Bgh aus Gerste cv Pallas bestimmt. Die RPE errechnet sich als Differenz aus der Penetrationseffizienz bei pNAox-dsRNA transformierten Zellen und der Penetrationseffizienz bei Kontroll-dsRNA transformierten Zellen (hier: durchschnittliche Penetrationseffizienz 38,74 %). Die prozentuale RPE (%-RPE) errechnet sich aus der RPE minus 1 und multipliziert mit 100.

$$\text{RPE} = \frac{[\text{PE bei pNAox-dsRNA transformierten Zellen}]}{[\text{PE bei Kontroll-dsRNA transformierten Zellen}]}$$

$$\% \text{-RPE} = 100 * (\text{RPE} - 1)$$

Die Säulen "1" bis "5" stellen die %-RPE (d.h. die Abweichung der Penetrationseffizienz vom Durchschnitt der Penetrationseffizienz der Kontrolle) bei Evaluierung von mindestens 100 Interaktionsstellen für jeweils ein unabhängiges Experiment dar. Die Säule "m" stellt die durchschnittliche %-RPE der Experimente dar. Der Fehlerbalken gibt den Standardfehler an.

"Control-dsRNA" stellt die parallelen Experimente mit einer Kontroll-dsRNA. "pNAox"-dsRNA stellt die Experimente mit der dsRNA der NADPH-Oxidase aus Gerste dar.

- 5 Die %-RPE war in Zellen, die mit pNAox-dsRNA beschossen wurden, deutlich (Signifikanz  $p=0,0054$ ) vermindert im Vergleich zu Zellen, die mit einer Kontroll-dsRNA (TR: humaner Thyroidrezeptor-dsRNA) bombardiert wurden.

## 10 Beispiele

### Allgemeine Methoden:

- Die chemische Synthese von Oligonukleotiden kann beispielsweise, in bekannter Weise, nach der Phosphoamiditmethode (Voet, Voet, 2. Auflage, Wiley Press New York, Seite 896-897) erfolgen. Die im Rahmen der vorliegenden Erfindung durchgeführten Klonierungsschritte wie z.B. Restriktionsspaltungen, Agarosegelelektrophorese, Reinigung von DNA-Fragmenten, Transfer von Nukleinsäuren auf Nitrozellulose und Nylonmembranen, Verknüpfen von DNA-Fragmenten, Transformation von E. coli Zellen, Anzucht von Bakterien, Vermehrung von Phagen und Sequenzanalyse rekombinanter DNA werden wie bei Sambrook et al. (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press; ISBN 0-87969-309-6 beschrieben durchgeführt.
- 25 Die Sequenzierung rekombinanter DNA-Moleküle erfolgt mit einem Laserfluoreszenz-DNA-Sequenzierer der Firma MWG-Licor nach der Methode von Sanger (Sanger et al. (1977) Proc Natl Acad Sci USA 74:5463-5467).

### 30 Beispiel 1: Pflanzen, Pathogene und Inokulation

- Die Sorte Pallas wurde von Lisa Munk, Department of Plant Pathology, Royal Veterinary and Agricultural University, Kopenhagen, Dänemark zur Verfügung gestellt. Ihre Herstellung ist beschrieben
- 35 (Kølster P et al. (1986) Crop Sci 26: 903-907).

- Das 12 bis 36 h im Dunkeln auf feuchtem Filterpapier vorgekeimte Saatgut wurde, wenn nicht anders beschrieben, zu je 5 Körnern an den Rand eines Vierkanttopfes (8x8 cm) in Fruhstorfer Erde vom Typ P ausgelegt, mit Erde bedeckt und regelmäßig mit Leitungswasser gegossen. Alle Pflanzen wurden in Klimaschränken oder -kammern bei 16 bis 18°C, 50 bis 60 % relativer Luftfeuchte und einem 16-stündigen Licht / 8stündigen Dunkelheitszyklus mit 3000 bzw. 5000 lux (50 bzw. 60  $\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$  Photonenflussdichte) 5 bis
- 45 8 Tage lang kultiviert und im Keimlingsstadium in den Versuchen

verwendet. Bei Experimenten, in denen Applikationen an Primärblättern durchgeführt wurden, waren diese vollständig entwickelt.

Vor Durchführung der transienten Transfektionsexperimente

5 wurden die Pflanzen in Klimaschränken oder -kammern bei tagsüber 24°C, nachts 20°C, 50 bis 60 % relativer Luftfeuchte und einem 16stündigen Licht / 8stündigen Dunkelheitszyklus mit 30000 lux kultiviert.

10 Für die Inokulation von Gerstenpflanzen wurde Echte Gerstenmehltau *Blumeria graminis* (DC) Speer f.sp. *hordei* Em. Marchal der Rasse A6 (Wiberg A (1974) Hereditas 77: 89-148) (BghA6) verwendet. Dieser wurde vom Institut für Biometrie, JLU Gießen bereitgestellt. Die Nachzucht des Inokulums erfolgte in Klimakammern zu den gleichen Bedingungen, wie sie oben für die Pflanzen beschrieben sind, durch Übertragung der Konidien von befallenem Pflanzenmaterial auf regelmäßig angezogene, 7 Tage alte Gerstenpflanzen cv. Golden Promise bei einer Dichte von 100 Konidien/mm<sup>2</sup>.

20

Die Inokulation mit BghA6 erfolgte unter Verwendung von 7 Tagen alten Keimlingen durch Abschütteln der Konidien bereits befallener Pflanzen in einem Inokulationsturm mit ca. 100 Konidien/mm<sup>2</sup> (soweit nicht anders angegeben).

25

Beispiel 2: Klonierung der pNAox cDNA Sequenz aus Gerste

Die zur Isolation der HvpNAox cDNA, ihrer Klonierung, Sequenzierung und Herstellung von Sonden benötigten cDNA

30 Fragmente wurden mittel RT-PCR unter Verwendung des "One Step RT-PCR Kit" (Life Technologies, Karlsruhe, Deutschland oder Qiagen, Hilden, Deutschland) erhalten. Dazu wurde Gesamt-RNA aus Gerste-Sämlingen als Matrize verwendet. Die RNA wurde aus Pallas 3, 5 und 7 Tage nach Keimung isoliert. Darüberhinaus wurde RNA 35 aus Pallas und den rückgekreuzten Linien mit *mlo5*, *Mlg* oder *Mla12* 1, 2 und 5 Tage nach Inokulation mit *BghA6* am 7 Tag nach Keimung isoliert. Für die RT-PCR wurden Primer verwendet, die von konservierten Regionen der gp91phox Homologen aus Reis und Arabidopsis thaliana abgeleitet sind (GenBank Acc.-No.: X93301 bzw. 40 AB008111):

5' NAOX: 5'-GARCAAGGCTCTTTTGATTG-3' (SEQ ID NO: 23) und

3' Naox: 5' GAAATGCTCCTTATGGAATTC 3' (SEQ ID NO: 24)

## 66

Für die Reaktion (25 µL-Ansatz) wurden je 1000 ng Gesamt-RNA, 0,4 mM dNTPs, je 0,6 mM OPN-1 und OPN-2 Primer, 10 µl RNase-Inhibitor und 1 µl Enzymmix in 1x RT-Puffer (one step RT-PCR Kit, Qiagen, Hilden) eingesetzt.

5

Folgendes Temperaturprogramm wird verwendet (PTC-100TM Modell 96V; MJ Research, Inc., Watertown, Massachusetts):

- |      |  |
|------|--|
| 1    | Zyklus mit 30 min bei 50°C                                       |
| 10 1 | Zyklus mit 150 sec bei 94°C                                      |
| 30   | Zyklen mit 94°C für 45 sec, 55°C für 1 min<br>und 72°C für 2 min |
| 1    | Zyklus mit 72°C für 7 min  |

- 15 Die PCR Produkt wurde mittels 2% w/v Agarosegelelektrophorese aufgetrennt. Es wurde ein RT-PCR Produkt von 378 bp erhalten (SEQ ID NO: 1), das ein teil des offenen Leseraster der NADPH-Oxidase aus Gerste kodiert. Die entsprechende cDNA wurde aus einem Agarosegel isoliert und in den pGEM-T-Vektor (Promega, Mannheim, Deutschland) mittels T-Überhang-Ligation kloniert. Die cDNAs wurden ausgehend von der Plasmid-DNA unter Verwendung des "Thermo Sequenase Fluorescent Labeled Primer Cycle Sequencing Kit" (Amersham, Freiburg, Deutschland) sequenziert. Das Konstrukt wurde mit pGEM-T-pNAox bezeichnet.

25

Beispiel 3: In vitro Synthese der pNAox dsRNA

- Das Plasmid pGEM-T-pNAox, das für die in vitro RNA-Transkription eingesetzt wurde, beinhaltet den T7 und SP6 Promotor an den jeweiligen Enden der insertierten Nukleinsäuresequenz, was die Synthese von sense- bzw. antisense RNA ermöglicht. Das Plasmide kann mit geeigneten Restriktionsenzymen (ApaI für SP6- und PstI für T7-Polymerase) linearisiert werden, um eine korrekte Transkription der insertierten Nukleinsäuresequenz zu gewährleisten und ein Durchlesen in vektorielle Sequenzen zu verhindern. Dazu wurden 10 µg pGEM-T-pNAox Plasmid-DNA jeweils mit ApaI für SP6- und PstI für T7-Polymerase geschnitten. Die geschnittenen Plasmide werden in 200 µl Wasser mit gleichem Volumen Phenol/Chloroform/Isoamylalkohol extrahiert, in ein neues Eppendorffreaktionsgefäß (RNase frei) transferiert und 5 min bei 20000 g zentrifugiert. 180 µl der Plasmid-Lösung wurden mit 420 µl Ethanol versetzt, auf Eis gestellt und anschließend durch Zentrifugation für 30 min bei 20000 g und - 4°C präzipitiert. Das Präzipitat wurde in 10 µl TE Puffer aufgenommen.
- 45 Die jeweiligen Präparationen wurden direkt in eine in vitro Transkription mit T7-RNA-Polymerase bzw. SP6-RNA-Polymerase

## 67

eingesetzt. RNA Polymerasen wurden von Roche Molecular Biology, Mannheim, Deutschland bezogen.

Jeder Transkriptionsansatz beinhaltetete in einem Volumen of 40 µl:

5

- 2 µl linearisierte Plasmid DNA (1 µg)
- 2 µl NTP's (25 mM) (1,25 mM von jedem NTP)
- 4 µl 10xReaktionspuffer (Roche Molecular Biology),
- 1 µl RNasin RNasin (27 Units; Roche Molecular Biology),

- 10 2 µl RNA Polymerase (40 Units)
- 29 µl DEPC-Wasser

- Nach einer Inkubation von 2 h bei 37°C wurde jeweils ein Teil der Reaktionsansätze aus der Transkription des "sense"- bzw. "anti-sense"-Stranges gemischt, für 5 min bei 95°C denaturiert und anschließend durch Abkühlung über 30 min auf eine Endtemperatur von 37°C miteinander hybridisiert ("annealing"). Alternativ kann nach der Denaturierung das Gemisch aus sense- und antisense-Strang auch für 30 min bei -20°C gekühlt werden. Das Protein-  
15 präzipitat, das sich während Denaturierung und Hybridisierung bildet wurde durch kurze Zentrifugation bei 20800 g abgetrennt und der Überstand direkt zur Beschichtung von Wolframpartikeln verwendet (s. unten). Zur Analyse wurden jeweils 1 µl jeden RNA-Stranges und der dsRNA auf einem nicht-denaturierenden Agarosegel  
20 aufgetrennt. Eine erfolgreiche Hybridisierung zeigte sich, durch eine Bandenverschiebung zu höherem Molekulargewicht im Vergleich zu den Einzelsträngen.

- 4 µl der dsRNA wurden Ethanol-präzipitiert (durch Zugabe von 6 µl -  
30 Wasser, 1 µl 3M Natriumacetat-Lösung und 25 µl Ethanol, sowie Zenrifugation für mindestens 5 min bei 20000 g und 4°C) und in 500 µl Wasser resuspendiert. Das Absorbtionsspektrum zwischen 230 und 300 nm wurde gemessen, bzw. die Absorption bei 280 und 260 nm bestimmt, um die Reinheit und die Konzentration der dsRNA  
35 zu bestimmen. In der Regel wurden 80 bis 100 µg dsRNA mit einem OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub>-Verhältnis von 1,80 bis 1,95 erhalten. Ein Verdau mit DNase I kann optional durchgeführt werden, beeinflusst jedoch nachfolgende Ergebnisse nicht wesentlich.

- 40 Als Kontroll-dsRNA fungierte die dsRNA des humanen Thyroidezeptors (Ausgangsvektor pT7betaSal (Norman C et al. (1988) Cell 55(6):989-1003) zur Verfügung gestellt von Dr. Baniahmad, Institut für Genetik, Gießen, Deutschland; die Sequenz des Insert ist beschrieben unter der GenBank Acc.-No.: NM\_000461). Für die  
45 Herstellung der sense-RNA wurde das Plasmid mit PvuII, für die antisense-RNA mit HindIII verdaut und die RNA dann mit T7- bzw. SP6 RNA-Polymerase transkribiert. Die einzelnen Verfahrens-

Schritte zur Herstellung der Kontroll-dsRNA werden analog den oben für die pNAox-dsRNA beschriebenen durchgeführt.

5 Beispiel 4: Transiente Transformation, RNAi und Evaluation  
der Pilzpathogenentwicklung

- Gerste cv Pallas Blattsegmente wurden mit einer pNAox-dsRNA zusammen mit einem GFP-Expressionsvektor transformiert. Anschließend wurden die Blätter mit Bgh inokuliert und das
- 10 Ergebnis nach 48 h mittels Licht- und Fluoreszenzmikroskopie analysiert. Die Penetration in GFP-exprimierenden Zellen wurde mittels Detektion von Haustorien in lebenden Zellen und durch Bewertung der Pilzentwicklung in eben diesen Zellen beurteilt. In allen fünf Experimenten führte die Bombardierung von Gerste cv
- 15 Pallas mit pNAox-dsRNA zu einer verminderten Anzahl von erfolgreich durch Bgh penetrierten Zellen im Vergleich zu Zellen die mit einer fremden Kontroll-dsRNA (humaner Thyroidhormonrezeptor dsRNA, TR) bombardiert wurden. Der resistenzinduzierende Effekt der pNAox-dsRNA bedingte eine durchschnittliche Verminderung der
- 20 Penetrationseffizienz durch Bgh um 35 % (Fig. 4).

- Es wurde ein Verfahren zur transienten Transformation eingesetzt das bereits für die biolistische Einführung von dsRNA in epidermale Zellen von Gerstenblättern beschrieben wurde (Schweizer
- 25 P et al. (1999) Mol Plant Microbe Interact 12:647-54; Schweizer P et al. (2000) Plant J 2000 24: 895-903). Wolframpartikel mit einem Durchmesser von 1,1 µm (Partikeldichte 25 mg/ml) wurden mit dsRNA (Herstellung siehe oben) zusammen mit Plasmid-DNA des Vektors pGFP (GFP unter Kontrolle des CaMV 35S Promotors)
- 30 als Transformationsmarker beschichtet. Dazu wurden pro Schuss die nachfolgender Mengen an dsRNA bzw. Reporterplasmid zur Beschichtung verwendet: 1 µg pGFP und 2 µg dsRNA. Dopplesträngige RNA wurde mittels Verschmelzens von "sense" und "antisense"-RNA in vitro synthetisiert (s.o.).

35

- Für Microcarrier-Präparation wurden 55 mg Wolframpartikel (M 17, Durchmesser 1,1 µm; Bio-Rad, München) zweimal mit 1 ml autoklaviertem Destilliertem Wasser und einmal mit 1 mL absolutem Ethanol gewaschen, getrocknet und in 1 ml 50 %igem Glycerin aufgenommen (ca. 50 mg/ml Stammlösung). Die Lösung wurde mit 50 %igem Glycerin auf 25 mg/ml verdünnt, vor Gebrauch gut gemischt und im Ultraschallbad suspendiert. Zur Microcarrier-Beschichtung wurden pro Schuss 1 µg Plasmid, 2 µg dsRNA (1 µL), 12,5 µl Wolframpartikel-Suspension (25 mg/ml), 12,5 µl 1 M Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-Lösung
- 40 (pH 10) tropfenweise unter ständigem Mischen zusammengegeben, 10 min bei RT stehengelassen, kurz zentrifugiert und 20 µl vom
- 45

Überstand abgenommen. Der Rest mit den Wolframpartikel wird resuspendiert (Ultraschallbad) und ins Experiment eingesetzt.

- Es wurden ca. 4 cm lange Segmente von Gerstenprimärblättern verwendet. Die Gewebe wurden auf 0,5 % Phytagar (GibcoBRL™ Life Technologies™, Karlsruhe) mit 20 µg/ml Benzimidazol in Petrischalen (6,5 cm Durchmesser) gelegt und direkt vor dem Partikelbeschuss an den Rändern mit einer Schablone mit einer rechteckigen Aussparung von 2,2 cm x 2,3 cm abgedeckt. Die Schalen wurden nacheinander auf den Boden der Vakuumkammer (Schweizer P et al. (1999) Mol Plant Microbe Interact 12:647-54) gestellt, über dem ein Nylonnetz (Maschenweite 0,2 mm, Millipore, Eschborn) als Diffusor auf einer Lochplatte eingeschoben war (5 cm über dem Boden, 11 cm unterhalb des Macrocarriers, s.u.), um Partikelklumpen zu zerstreuen und den Partikelstrom abzubremesen. Der oben an der Kammer angebrachte Macrocarrier (Plastik-Sterilfilterhalter, 13 mm, Gelman Sciences, Swinney, UK) wurde je Schuss mit 5,8 µL DNA-beschichteten Wolframpartikeln (Microcarrier, s.u.) beladen. Mit einer Membranvakuumpumpe (Vacuubrand, Wertheim) wurde der Druck um 0,9 bar in der Kammer reduziert und die Wolframpartikel mit 9 bar Heliumgasdruck auf die Oberfläche des Pflanzengewebes geschossen. Sofort danach wurde die Kammer belüftet. Zur Markierung transformierter Zellen wurden die Blätter mit dem Plasmid (pGFP; Vektor auf pUC18-Basis, CaMV 35S-Promoter/Terminator-Kassette mit insertiertem GFP-Gen; Schweizer P et al. (1999) Mol Plant Microbe Interact 12:647-54; zur Verfügung gestellt von Dr. P. Schweizer, Institut für Pflanzengenetik IPK, Gatersleben, Deutschland) beschossen. Vor dem Schießen eines anderen Plasmids wurde der Macrocarrier jeweils gründlich mit Wasser gereinigt. Nach vierstündiger Inkubation nach dem Beschuss bei leicht geöffneten Petrischalen, RT und Tageslicht wurden die Blätter mit 100 Konidien/mm<sup>2</sup> des Echten Gerstenmehltaupilzes (Rasse A6) inokuliert und für weitere 40 bis 48 h unter gleichen Bedingungen inkubiert.
- Blattsegmente wurden mit den beschichteten Partikeln unter Verwendung einer "particle inflow gun" bombardiert. Pro Schuss wurden 312 µg Wolframpartikel appliziert. 4 h nach der Bombardierung wurde Inokulation mit *Blumeria graminis f.sp. hordei* Mehltau (Rasse A6) inokuliert und nach weiteren 40 h bezüglich der Infektionsanzeichen ausgewertet. Das Ergebnis (z.B. die Penetrationseffizienz, definiert als prozentualer Anteil angegriffener Zellen, die ein reifes Haustorium und eine Sekundärhyphae ("secondary elongating hyphae") wurde mittels Fluoreszenz- und Lichtmikroskopie analysiert. Eine Inokulation mit 100 Conidia/mm<sup>2</sup> ergibt eine Angriffsfrequenz von ca. 50 % der transformierten Zellen. Für jedes einzelne Experiment wurde eine

minimale Anzahl von 100 Interaktionsstellen ausgewertet. Transformierte (GFP exprimierende) Zellen wurden unter Anregung mit blauem Licht identifiziert. Drei verschiedene Kategorien von transformierten Zellen konnten unterschieden werden:

5

1. Penetrierte Zellen, die ein leicht erkennbares Haustorium beinhalten. Eine Zelle mit mehr als einem Haustorium wurde als eine Zelle gewertet.

10 2. Zellen, die durch ein Pilz-Appressorium zwar angegriffen wurden, aber kein Haustorium beinhalten. Eine Zelle die mehrfach von Bgh angegriffen wurden, aber kein Haustorium enthält, wurde als eine Zelle gewertet.

15 3. Zellen die nicht durch Bgh angegriffen sind.

Stomatazellen und Stomatanebenzellen wurden von der Bewertung ausgeschlossen. Oberflächenstrukturen von Bgh wurden mittels Lichtmikroskopie oder Fluoreszenzfärbung des Pilzes mit 0,1 %

20 Calcofluor (w/v in Wasser) für 30 sec analysiert. Die Entwicklung des Pilzes kann leicht durch Fluoreszenzmikroskopie nach Anfärbung mit Calcofluor evaluiert werden. In pNAox-dsRNA transformierten Zellen entwickelt der Pilz zwar ein primäres und ein appressoriales Keimschlauch ("Germ-Tube") aber kein  
25 Haustorium. Haustoriumausbildung ist eine Vorbedingung für die Bildung einer Sekundärhyphae.

Die relative Penetrationseffizienz (RPE) errechnet sich als Differenz aus der Penetrationseffizienz bei transformierten

30 Zellen (Transformation mit pNAox- oder Kontroll-dsRNA) und der Penetrationseffizienz bei untransformierten Zellen (hier: durchschnittliche Penetrationseffizienz 38,74 %). Die prozentuale RPE (%-RPE) errechnet sich aus der RPE minus 1 und multipliziert mit 100.

35

$$\text{RPE} = \frac{[\text{PE bei pNAox-dsRNA transformierten Zellen}]}{[\text{PE bei Kontroll-dsRNA transformierten Zellen}]}$$

$$\% \text{-RPE} = 100 * (\text{RPE} - 1)$$

40

Der %-RPE-Wert (Abweichung von der durchschnittlichen Penetrationseffizienz der Kontrolle) dient der Bestimmung des Suszeptibilität von Zellen, die mit pNAox-dsRNA transfiziert sind (Fig. 4).

45

## 71

Bei der Kontroll-dsRNA wurde bei fünf unabhängigen Versuchen kein Unterschied zwischen der Transfektion mit der Kontroll dsRNA und Wasser bezüglich der Penetrationseffizienz von *Bgh* beobachtet.

- 5 Um einen Einfluss auf der dsRNA auf die Transformationsrate oder Überlebensrate der angegriffenen Zellen auszuschließen, wurde die Anzahl der GFP-exprimierenden Zellen zwischen Kontroll- und *pNAox*-dsRNA Experimenten verglichen. Die *pNAox*-dsRNA hatten keinen Einfluss auf die Gesamtanzahl- oder die Anzahl der angegriffenen GFP-exprimierenden Zellen.

Beispiel 5: Inhibition der NADPH-Oxidase mit Diphenyleniodoniumchlorid

- 15 Untermuert werden die Ergebnisse durch weitere Experimente mit dem NADPH-Oxidase Inhibitor Diphenyleniodoniumchlorid (DPI; Tabelle 1). Im allgemeinen wurden die Experimente durchgeführt wie von Hückelhoven und Kogel, 1998.

- 20 Tab. 1: Wirkung von DPI auf die Pathogenabwehr in *Pallasa*<sup>a</sup>

Art der Interaktion	Interaktionen (% $\pm$ Standardfehler)	
	Kontrolle <sup>b</sup>	200 $\mu$ M DPI <sup>c</sup>
25 Penetration	68.25 $\pm$ 9.9	16.25 $\pm$ 0.5
Nicht-Penetration	24.25 $\pm$ 6.3	67.5 $\pm$ 9.5
HR (Hypersensitive Reaktion)	7.5 $\pm$ 3.7	16.25 $\pm$ 9.3

30

- a DPI-Behandlung erfolgte 12 h nach Pathogen-Inokkulation, die Auswertung 36 h nach Inokkulation.

- b Kontrolle mit 10 mM Kaliumphosphatpuffer, pH 7,8, mit DMSO  
35 Gehalt wie bei DPI Behandlung.

- c DPI gelöst in 10 mM Kaliumphosphatpuffer, pH 7,8, ausgehend von einer 10 mg/ml DPI Stammlösung in DMSO.

40

45

## Patentansprüche

1. Verfahren zum Erzielen oder Erhöhen der Resistenz gegen  
mindestens ein Pathogen in Pflanzen, dadurch gekennzeichnet,  
5 dass nachfolgende Arbeitsschritte umfasst sind
- a) Verminderung der Proteinmenge, Aktivität oder Funktion  
einer NADPH-Oxidase in einer Pflanze oder einem Gewebe,  
Organ, Teil oder Zelle derselben und
- 10 b) Auswahl der Pflanzen, bei denen - im Unterschied oder  
Vergleich zur Ausgangspflanze - die Resistenz gegen  
mindestens ein Pathogen besteht oder erhöht ist.
- 15 2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die NADPH-Oxidase kodiert  
wird durch
- a) Polypeptidsequenzen umfassend eine Sequenz gemäß  
SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 oder 22,  
20 oder
- b) Polypeptidsequenzen eines funktionellen Äquivalentes  
eines Polypeptides, welches eine Sequenz gemäß  
SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 oder 22  
25 umfasst.
3. Verfahren nach Anspruch 2, wobei das funktionelle Äquivalent  
eine Homologie von mindestens 50 % zu einem der Polypeptide  
gemäss SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 oder 22  
30 hat.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die Ver-  
minderung der Proteinmenge, Aktivität oder Funktion einer  
NADPH-Oxidase gewährleistet wird durch Anwendung eines Ver-  
fahrens ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus
- 35 a) Einbringen einer doppelsträngigen NADPH-Oxidase Ribo-  
nukleinsäuresequenz oder einer deren Expression gewähr-  
leistenden Expressionskassette oder Expressionskassetten,
- 40 b) Einbringen einer NADPH-Oxidase antisense-Nukleinsäure-  
sequenz oder einer deren Expression gewährleistenden  
Expressionskassette,

- c) Einbringen einer NADPH-Oxidase antisense-Nukleinsäuresequenz kombiniert mit einem Ribozym oder einer deren Expression gewährleistenden Expressionskassette,
- 5 d) Einbringen von NADPH-Oxidase sense-Nukleinsäuresequenzen zur Induktion einer Kosuppression oder einer deren Expression gewährleistenden Expressionskassette,
- 10 e) Einbringen DNA-oder Protein-bindende Faktoren gegen NADPH-Oxidase-Gene, -RNAs oder -Proteine oder einer deren Expression gewährleistenden Expressionskassette,
- 15 f) Einbringen von den NADPH-Oxidase RNA-Abbau bewirkende virale Nukleinsäuresequenzen und Expressionskonstrukten oder einer deren Expression gewährleistenden Expressionskassette,
- 20 g) Einbringen von Konstrukten zur Induktion einer homologen Rekombination an endogenen NADPH-Oxidase-Genen und
- h) Einführung von Mutationen in ein endogenes NADPH-Oxidase Gen.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, umfassend
- 25 (i) die stabile Transformation einer pflanzlichen Zelle mit einer rekombinanten Expressionskassette enthaltend in funktioneller Verknüpfung mit einem in Pflanzen aktiven Promotor eine Nukleinsäuresequenz kodierend für
- 30 a) eine doppelsträngigen NADPH-Oxidase RNA-Ribonukleinsäuresequenz oder
- 35 b) eine NADPH-Oxidase antisense-Nukleinsäuresequenz oder
- c) eine NADPH-Oxidase antisense-Nukleinsäuresequenz kombiniert mit einem Ribozym oder
- 40 d) eine NADPH-Oxidase sense-Nukleinsäuresequenzen zur Induktion einer Kosuppression oder
- e) DNA-oder Protein-bindende Faktoren gegen NADPH-Oxidase-Gene, -RNAs oder -Proteine
- 45 f) den NADPH-Oxidase RNA-Abbau bewirkende virale Nukleinsäuresequenzen

## 3

- (ii) Regeneration der Pflanze aus der pflanzlichen Zelle, und
- (iii) Expression besagter Nukleinsäuresequenz in einer Menge und für eine Zeit hinreichend, um eine Pathogenresistenz in besagter Pflanze zu erzeugen oder zu erhöhen.
- 5
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei das Pathogen ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Bakterien, Pilzen, Insekten, Viren und Nematoden.
- 10
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei das Pathogen ausgewählt ist aus der Gruppe der Pilze bestehend aus Plasmodiophoromycota, Oomycota, Ascomycota, Chytridiomyceten, Zygomyceten, Basidiomycota und Deuteromyceten.
- 15
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei die Pflanze aus den monokotyledonen und dikotyledonen Pflanzen ausgewählt ist.
- 20
9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, wobei die Pflanze ausgewählt ist aus der Gruppe der monokotyledonen Pflanzen bestehend aus Weizen, Hafer, Hirse, Gerste, Roggen, Mais, Reis, Buchweizen, Sorghum, Triticale, Dinkel, Leinsamen oder Zuckerrohr.
- 25
10. Doppelsträngiges RNA-Molekül zur Verminderung der Expression einer NADPH-Oxidase umfassend
- 30
- a) einen "sense"-RNA-Strang umfassend mindestens eine Ribonukleotidsequenz, die im wesentlichen identisch ist zu mindestens einem Teil des "sense"-RNA-Transkriptes einer Nukleinsäuresequenz kodierend für eine NADPH-Oxidase, und
- 35
- b) einen "antisense"-RNA-Strang, der zu dem RNA-sense-Strang unter a) im wesentlichen komplementären ist.
11. Doppelsträngiges RNA-Molekül nach Anspruch 10, wobei die beiden RNA-Stränge der doppelsträngigen RNA kovalent miteinander verbunden sind.
- 40
12. Doppelsträngiges RNA-Molekül nach einem der Ansprüche 10 oder 11, wobei einer der beiden RNA-Stränge kodiert wird durch zumindest einen Teil einer Nukleinsäuresequenz kodierend für eine NADPH-Oxidase Sequenz gemäß SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9,
- 45
- 11, 13, 15, 17, 19 oder 21 oder ein funktionelles Äquivalent derselben.

13. Transgene Expressionskassette enthaltend in funktioneller Verknüpfung mit einem in pflanzlichen Organismen funktionellen Promotor eine Nukleinsäuresequenz kodierend für ein doppelsträngiges RNA-Molekül gemäß einem der Ansprüche 10 bis 12.
14. Transgene Expressionskassette enthaltend zumindest einen Teil einer Nukleinsäuresequenz kodierend für eine NADPH-Oxidase gemäß SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 oder 21 oder ein funktionelles Äquivalent derselben, wobei besagte Nukleinsäuresequenz in antisense-Orientierung mit einem in pflanzlichen Organismen funktionellen Promotor funktionell verknüpft ist.
15. Transgene Expressionskassette nach Anspruch 13 oder 14, wobei der in Pflanzen funktionelle Promotor ein pathogen-induzierbarer Promotor ist.
16. Transgener Vektor enthaltend eine Expressionskassette gemäß einem der Ansprüche 13 bis 15.
17. Transgener Organismus enthaltend ein doppelsträngiges RNA-Molekül gemäß einem der Ansprüche 10 bis 12, eine Expressionskassette gemäß einem der Ansprüche 13 bis 15 oder einen Vektor gemäß Anspruch 16.
18. Transgener Organismus nach Anspruch 17 ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Bakterien, Hefen, Tieren und Pflanzen.
19. Transgener Organismus nach Anspruch 17 oder 18, ausgewählt aus der Gruppe der Pflanzen bestehend aus Weizen, Hafer, Hirse, Gerste, Roggen, Mais, Reis, Buchweizen, Sorghum, Triticale, Dinkel, Leinsamen, Zuckerrohr, Raps, Canola, Kresse, Arabidopsis, Kohlarten, Soja, Alfalfa, Erbse, Bohnengewächsen, Erdnuss, Kartoffel, Tabak, Tomate, Aubergine, Paprika, Sonnenblume, Tagetes, Salat, Calendula, Melone, Kürbis und Zucchini.
20. Gewebe, Organ, Teil, Zelle, Zellkultur oder Vermehrungsgut abgeleitet von einem transgenen Organismus gemäß einem der Ansprüche 18 oder 19.

## Verfahren zum Erreichen einer Pathogenresistenz in Pflanzen

## Zusammenfassung

5

Die Erfindung betrifft Verfahren zur Erzeugung oder Erhöhung einer Pathogenresistenz in Pflanzen durch Verminderung der Expression, Aktivität oder Funktion einer NADPH Oxidase.

10

15

20

25

30

35

40

45

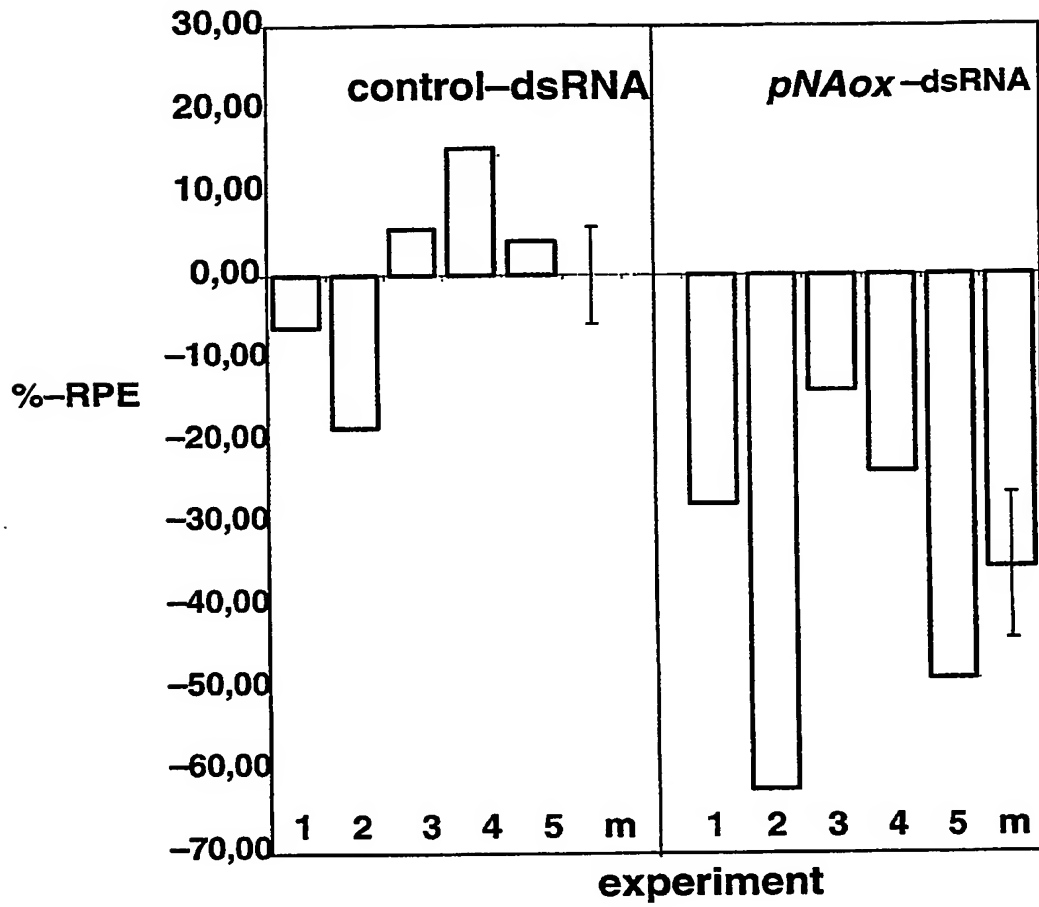


Fig. 1

## SEQUENZPROTOKOLL

&lt;110&gt; BASF Plant Science GmbH

&lt;120&gt; Verfahren zum Erreichen einer Pathogenresistenz in Pflanzen

&lt;130&gt; AE20020416

&lt;140&gt;

&lt;141&gt;

&lt;160&gt; 24

&lt;170&gt; PatentIn Ver. 2.1

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 337

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Hordeum vulgare

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (2)..(337)

&lt;223&gt; coding for NADPH-oxidase (fragment)

&lt;400&gt; 1

```

g ttt aaa gga atc atg aat gag att gct gaa cta gat caa agg aat atc 49
Phe Lys Gly Ile Met Asn Glu Ile Ala Glu Leu Asp Gln Arg Asn Ile
   1             5             10             15

att gag atg cac aac tat ctc aca agt gtt tat gag gaa ggg gat gct 97
Ile Glu Met His Asn Tyr Leu Thr Ser Val Tyr Glu Glu Gly Asp Ala
           20             25             30

cgg tca gca ctc atc aca atg ctg caa gct ctc aac cat gcc aag aat 145
Arg Ser Ala Leu Ile Thr Met Leu Gln Ala Leu Asn His Ala Lys Asn
       35             40             45

ggt gtc gat gta gtg tct ggm act cga gtc cgg aca cat ttt gca aga 193
Gly Val Asp Val Val Ser Xaa Thr Arg Val Arg Thr His Phe Ala Arg
   50             55             60

cca aat ttt aag agg gtg ctg tct aag gta gcc gcc aaa cat cct tat 241
Pro Asn Phe Lys Arg Val Leu Ser Lys Val Ala Ala Lys His Pro Tyr
   65             70             75             80

gcc aag ata gga gtg ttc tat tgc gga gct cca gtt ctg gcg cag gaa 289
Ala Lys Ile Gly Val Phe Tyr Cys Gly Ala Pro Val Leu Ala Gln Glu
           85             90             95

cta agc aac ctt tgc cat gag ttc aat ggc aaa tgc acg aca aaa ttc 337
Leu Ser Asn Leu Cys His Glu Phe Asn Gly Lys Cys Thr Thr Lys Phe
       100             105             110

<210> 2
<211> 112
<212> PRT
<213> Hordeum vulgare

<400> 2
Phe Lys Gly Ile Met Asn Glu Ile Ala Glu Leu Asp Gln Arg Asn Ile
   1             5             10             15

Ile Glu Met His Asn Tyr Leu Thr Ser Val Tyr Glu Glu Gly Asp Ala
       20             25             30

Arg Ser Ala Leu Ile Thr Met Leu Gln Ala Leu Asn His Ala Lys Asn
       35             40             45

```

2

Gly	Val	Asp	Val	Val	Ser	Xaa	Thr	Arg	Val	Arg	Thr	His	Phe	Ala	Arg
50						55					60				
Pro	Asn	Phe	Lys	Arg	Val	Leu	Ser	Lys	Val	Ala	Ala	Lys	His	Pro	Tyr
65					70					75					80
Ala	Lys	Ile	Gly	Val	Phe	Tyr	Cys	Gly	Ala	Pro	Val	Leu	Ala	Gln	Glu
			85					90						95	
Leu	Ser	Asn	Leu	Cys	His	Glu	Phe	Asn	Gly	Lys	Cys	Thr	Thr	Lys	Phe
			100					105					110		

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 2832

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Oryza sativa

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(2829)

&lt;223&gt; coding for NADPH-oxidase

&lt;224&gt; 3

atg	agg	ggc	ggc	gcc	tcc	tcg	gga	ccc	cag	cga	tgg	ggc	tcg	gcg	ggg	48
Met	Arg	Gly	Gly	Ala	Ser	Ser	Gly	Pro	Gln	Arg	Trp	Gly	Ser	Ala	Gly	
1				5				10						15		
acg	aca	ccg	cgg	tcg	ctg	agc	acg	ggc	tcg	tcg	ccg	cgc	ggg	tcc	gac	96
Thr	Thr	Pro	Arg	Ser	Leu	Ser	Thr	Gly	Ser	Ser	Pro	Arg	Gly	Ser	Asp	
			20					25					30			
gac	cgg	agc	tcc	gac	gac	ggg	gag	gag	ctg	gtc	gag	gtc	acg	ctc	gac	144
Asp	Arg	Ser	Ser	Asp	Asp	Gly	Glu	Glu	Leu	Val	Glu	Val	Thr	Leu	Asp	
			35			40					45					
ctg	cag	gac	gac	gac	acc	att	gtg	ctt	cgg	agc	gtc	gag	ccc	gcg	gcg	192
Leu	Gln	Asp	Asp	Asp	Thr	Ile	Val	Leu	Arg	Ser	Val	Glu	Pro	Ala	Ala	
	50					55					60					
gcg	gcg	gcg	gcg	ggg	gtg	ggg	gcg	ggg	gcg	ggg	gcg	gcg	tcg	gcg	cgg	240
Ala	Ala	Ala	Ala	Gly	Val	Gly	Ala	Gly	Ala	Gly	Ala	Ala	Ser	Ala	Arg	
65				70				75							80	
ggg	gag	ctc	acg	ggt	ggc	ccg	tcg	tcg	tcg	tcg	tcg	cg	tcg	agg	tcg	288
Gly	Glu	Leu	Thr	Gly	Gly	Pro	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Arg	Ser	Arg	Ser	
				85				90						95		
ccg	tcg	atc	cgg	agg	agc	tcg	tcg	cac	cgg	ctg	ctg	cag	ttc	tcg	cag	336
Pro	Ser	Ile	Arg	Arg	Ser	Ser	Ser	His	Arg	Leu	Leu	Gln	Phe	Ser	Gln	
			100					105					110			
gag	ctc	aag	gcg	gag	gcc	atg	gcc	cgg	gcg	cgg	cag	ttc	tcg	cag	gac	384
Glu	Leu	Lys	Ala	Glu	Ala	Met	Ala	Arg	Ala	Arg	Gln	Phe	Ser	Gln	Asp	
			115				120					125				
ctg	acc	aag	cgg	ttc	ggc	cgc	agc	cac	agc	cgc	agc	gaa	gcg	cag	gcg	432
Leu	Thr	Lys	Arg	Phe	Gly	Arg	Ser	His	Ser	Arg	Ser	Glu	Ala	Gln	Ala	
	130					135					140					
ccg	tcg	ggc	ctc	gag	tcc	gcg	ctc	gcc	gcc	cgc	gcc	gcg	cgg	cgg	cag	480
Pro	Ser	Gly	Leu	Glu	Ser	Ala	Leu	Ala	Ala	Arg	Ala	Ala	Arg	Arg	Gln	
145					150					155					160	
cgc	gcg	cag	ctc	gac	cgc	aca	cgc	tcc	ggc	gcc	cac	aag	gcg	ctc	cgc	528
Arg	Ala	Gln	Leu	Asp	Arg	Thr	Arg	Ser	Gly	Ala	His	Lys	Ala	Leu	Arg	
				165					170						175	

ggc ctc cgc ttc atc agc agc aac aag gcc aac aac gcc tgg atg gag	576
Gly Leu Arg Phe Ile Ser Ser Asn Lys Ala Asn Asn Ala Trp Met Glu	
180 185 190	
gtg cag gcc aac ttc gac cgc ctc gcc cgc gac ggc tac ctc tcc cgc	624
Val Gln Ala Asn Phe Asp Arg Leu Ala Arg Asp Gly Tyr Leu Ser Arg	
195 200 205	
tcc gac ttc gcc gaa tgc atc ggg atg acg gaa tcg aag gag ttc gcg	672
Ser Asp Phe Ala Glu Cys Ile Gly Met Thr Glu Ser Lys Glu Phe Ala	
210 215 220	
ctc gag ctg ttc gac acg ctg agc cgg cga cga cag atg aag gtg gac	720
Leu Glu Leu Phe Asp Thr Leu Ser Arg Arg Arg Gln Met Lys Val Asp	
225 230 235 240	
acg att aac aag gat gaa ctc cgc gag atc tgg cag cag atc acc gat	768
Thr Ile Asn Lys Asp Glu Leu Arg Glu Ile Trp Gln Gln Ile Thr Asp	
245 250 255	
aac agc ttc gac tcc cgt ctc caa atc ttc ttc gaa atg gtg gat aag	816
Asn Ser Phe Asp Ser Arg Leu Gln Ile Phe Phe Glu Met Val Asp Lys	
260 265 270	
acg gcg gac ggc cgg att acg gag gcg gag gtg aaa gag att att atg	864
Asn Ala Asp Gly Arg Ile Thr Glu Ala Glu Val Lys Glu Ile Ile Met	
275 280 285	
ttg agc gcg tct gcc aat aaa ctg tcg agg ctt aag gag caa gca gaa	912
Leu Ser Ala Ser Ala Asn Lys Leu Ser Arg Leu Lys Glu Gln Ala Glu	
290 295 300	
gag tac gcc gct ttg atc atg gag gag ctt gat cct gaa ggg ctc ggc	960
Glu Tyr Ala Ala Leu Ile Met Glu Glu Leu Asp Pro Glu Gly Leu Gly	
305 310 315 320	
tac att gag cta tgg caa ttg gag aca ctt ctg ttg cag aaa gat acc	1008
Tyr Ile Glu Leu Trp Gln Leu Glu Thr Leu Leu Leu Gln Lys Asp Thr	
325 330 335	
tat atg aac tat agt cag gcc ctt agt tac aca agc caa gca ctg agc	1056
Tyr Met Asn Tyr Ser Gln Ala Leu Ser Tyr Thr Ser Gln Ala Leu Ser	
340 345 350	
cag aat ctt gca ggg cta agg aag aag agt tca atc cgc aaa ata agc	1104
Gln Asn Leu Ala Gly Leu Arg Lys Lys Ser Ser Ile Arg Lys Ile Ser	
355 360 365	
acc tct tta agc tac tat ttc gag gac aac tgg aaa cgt tta tgg gtg	1152
Thr Ser Leu Ser Tyr Tyr Phe Glu Asp Asn Trp Lys Arg Leu Trp Val	
370 375 380	
ctt gca ttg tgg att ggg ata atg gct gga ctg ttc acc tgg aaa ttc	1200
Leu Ala Leu Trp Ile Gly Ile Met Ala Gly Leu Phe Thr Trp Lys Phe	
385 390 395 400	
atg cag tat cgt aac cga tat gtc ttt gat gtg atg ggc tac tgt gtc	1248
Met Gln Tyr Arg Asn Arg Tyr Val Phe Asp Val Met Gly Tyr Cys Val	
405 410 415	
aca aca gca aaa gga gct gct gaa acc cta aag ctg aat atg gca att	1296
Thr Thr Ala Lys Gly Ala Ala Glu Thr Leu Lys Leu Asn Met Ala Ile	
420 425 430	
atc ctc ctg cca gta tgc cgt aac acc att act tgg ttg cga agt aca	1344
Ile Leu Leu Pro Val Cys Arg Asn Thr Ile Thr Trp Leu Arg Ser Thr	
435 440 445	

agg gct gca cgg gca cta cct ttt gat gac aac atc aac ttc cac aag	1392
Arg Ala Ala Arg Ala Leu Pro Phe Asp Asp Asn Ile Asn Phe His Lys	
450 455 460	
act att gca gca gca att gtg gtt ggt ata atc ctc cat gca ggg aac	1440
Thr Ile Ala Ala Ala Ile Val Val Gly Ile Ile Leu His Ala Gly Asn	
465 470 475 480	
cac ctt gta tgc gat ttt cca cgg tta ata aaa tca tca gat gag aag	1488
His Leu Val Cys Asp Phe Pro Arg Leu Ile Lys Ser Ser Asp Glu Lys	
485 490 495	
tat gct cct ttg ggc cag tat ttt ggg gaa ata aag cca aca tat ttt	1536
Tyr Ala Pro Leu Gly Gln Tyr Phe Gly Glu Ile Lys Pro Thr Tyr Phe	
500 505 510	
aca ttg gtc aaa gga gtg gag ggc atc act ggg gta atc atg gtt gta	1584
Thr Leu Val Lys Gly Val Glu Gly Ile Thr Gly Val Ile Met Val Val	
515 520 525	
tgc atg ata att gct ttt act cta gca acc cgg tgg ttc cgc cgt agc	1632
Lys Met Ile Ile Ala Phe Thr Leu Ala Thr Arg Trp Phe Arg Arg Ser	
530 535 540	
ttg gtt aag ctt cca agg cca ttt gac aaa ctg act ggc ttc aat gcc	1680
Leu Val Lys Leu Pro Arg Pro Phe Asp Lys Leu Thr Gly Phe Asn Ala	
545 550 555 560	
ttt tgg tat tct cat cat ctg ttc atc att gtg tat atc gcg ctc att	1728
Phe Trp Tyr Ser His His Leu Phe Ile Ile Val Tyr Ile Ala Leu Ile	
565 570 575	
gtt cat gga gag tgt cta tac ctt att cat gtc tgg tac aga aga acg	1776
Val His Gly Glu Cys Leu Tyr Leu Ile His Val Trp Tyr Arg Arg Thr	
580 585 590	
aca tgg atg tat ctt tca gtg cct gtt tgc ttg tat gta ggg gag agg	1824
Thr Trp Met Tyr Leu Ser Val Pro Val Cys Leu Tyr Val Gly Glu Arg	
595 600 605	
att cta agg ttc ttc agg tct ggc agt tat tct gtc cgg cta ttg aag	1872
Ile Leu Arg Phe Phe Arg Ser Gly Ser Tyr Ser Val Arg Leu Leu Lys	
610 615 620	
gtg gcc ata tat cca ggt aat gtt ttg aca ctg caa atg tcc aag cct	1920
Val Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Val Leu Thr Leu Gln Met Ser Lys Pro	
625 630 635 640	
ccc acg ttc cgt tac aag agt gga caa tat atg ttt gtt caa tgt cca	1968
Pro Thr Phe Arg Tyr Lys Ser Gly Gln Tyr Met Phe Val Gln Cys Pro	
645 650 655	
gca gtg tct ccc ttt gaa tgg cat ccc ttc tca att act tca gca cct	2016
Ala Val Ser Pro Phe Glu Trp His Pro Phe Ser Ile Thr Ser Ala Pro	
660 665 670	
ggg gat gac tac ctc agc att cat gtt cga caa ctt ggt gat tgg aca	2064
Gly Asp Asp Tyr Leu Ser Ile His Val Arg Gln Leu Gly Asp Trp Thr	
675 680 685	
cga gaa ctc aag aga gta ttt gct gca gct tgt gag ccc cca gcg ggt	2112
Arg Glu Leu Lys Arg Val Phe Ala Ala Ala Cys Glu Pro Pro Ala Gly	
690 695 700	
ggt aaa agc ggc ctt ctt agg gca gat gag aca act aag aaa atc tta	2160
Gly Lys Ser Gly Leu Leu Arg Ala Asp Glu Thr Thr Lys Lys Ile Leu	
705 710 715 720	

5

ccc aag ctt ctg att gat gga ccg tat ggt tct cct gct cag gat tac 2208  
 Pro Lys Leu Leu Ile Asp Gly Pro Tyr Gly Ser Pro Ala Gln Asp Tyr  
 725 730 735

agc aag tat gat gtt tta tta ctt gtt gga tta gga att ggt gcg aca 2256  
 Ser Lys Tyr Asp Val Leu Leu Leu Val Gly Leu Gly Ile Gly Ala Thr  
 740 745 750

ccc ttt att agc ata tta aaa gat ctt ctg aat aac atc atc aaa atg 2304  
 Pro Phe Ile Ser Ile Leu Lys Asp Leu Leu Asn Asn Ile Ile Lys Met  
 755 760 765

gag gaa gag gag gat gct tct act gat ctt tat cca cca atg ggt cgg 2352  
 Glu Glu Glu Glu Asp Ala Ser Thr Asp Leu Tyr Pro Pro Met Gly Arg  
 770 775 780

aat aag cca cat gtt gat ctg ggc aca ctt atg acg att acc tca aga 2400  
 Asn Lys Pro His Val Asp Leu Gly Thr Leu Met Thr Ile Thr Ser Arg  
 785 790 795 800

cca aag aag atc ttg aag acc aca aat gct tac ttt tac tgg gtg aca 2448  
 Pro Lys Lys Ile Leu Lys Thr Thr Asn Ala Tyr Phe Tyr Trp Val Thr  
 805 810 815

cgt gag caa ggc tct ttt gat tgg ttc aaa gga gtc atg aat gaa att 2496  
 Arg Glu Gln Gly Ser Phe Asp Trp Phe Lys Gly Val Met Asn Glu Ile  
 820 825 830

gct gac ttg gat caa agg aat atc att gag atg cac aac tac cta aca 2544  
 Ala Asp Leu Asp Gln Arg Asn Ile Ile Glu Met His Asn Tyr Leu Thr  
 835 840 845

agc gtc tat gag gag ggg gat gcc agg tca gca ctc atc acc atg ctc 2592  
 Ser Val Tyr Glu Glu Gly Asp Ala Arg Ser Ala Leu Ile Thr Met Leu  
 850 855 860

caa gct ctg aac cat gcc aag aat gga gtt gat att gtc tct ggg aca 2640  
 Gln Ala Leu Asn His Ala Lys Asn Gly Val Asp Ile Val Ser Gly Thr  
 865 870 875 880

aaa gtc cgg aca cat ttt gca cga cca aat tgg aga aag gtc ctt tct 2688  
 Lys Val Arg Thr His Phe Ala Arg Pro Asn Trp Arg Lys Val Leu Ser  
 885 890 895

aaa att tcc tcc aag cat cca tat gcc aaa ata ggt gta ttc tac tgt 2736  
 Lys Ile Ser Ser Lys His Pro Tyr Ala Lys Ile Gly Val Phe Tyr Cys  
 900 905 910

gga gct cca gtc ctg gca caa gaa cta agc aaa ctt tgc cat gaa ttc 2784  
 Gly Ala Pro Val Leu Ala Gln Glu Leu Ser Lys Leu Cys His Glu Phe  
 915 920 925

aac ggg aaa tgc aca acg aag ttc gaa ttc cat aag gag cat ttc tga 2832  
 Asn Gly Lys Cys Thr Thr Lys Phe Glu Phe His Lys Glu His Phe  
 930 935 940

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 943

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Oryza sativa

&lt;400&gt; 4

Met Arg Gly Gly Ala Ser Ser Gly Pro Gln Arg Trp Gly Ser Ala Gly  
 1 5 10 15

Thr Thr Pro Arg Ser Leu Ser Thr Gly Ser Ser Pro Arg Gly Ser Asp  
 20 25 30

Asp	Arg	Ser	Ser	Asp	Asp	Gly	Glu	Glu	Leu	Val	Glu	Val	Thr	Leu	Asp	
		35					40				45					
Leu	Gln	Asp	Asp	Asp	Thr	Ile	Val	Leu	Arg	Ser	Val	Glu	Pro	Ala	Ala	
	50					55					60					
Ala	Ala	Ala	Ala	Gly	Val	Gly	Ala	Gly	Ala	Gly	Ala	Ala	Ser	Ala	Arg	
	65				70				75						80	
Gly	Glu	Leu	Thr	Gly	Gly	Pro	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Arg	Ser	Arg	Ser	
				85					90					95		
Pro	Ser	Ile	Arg	Arg	Ser	Ser	Ser	His	Arg	Leu	Leu	Gln	Phe	Ser	Gln	
			100					105					110			
Glu	Leu	Lys	Ala	Glu	Ala	Met	Ala	Arg	Ala	Arg	Gln	Phe	Ser	Gln	Asp	
		115					120					125				
Leu	Thr	Lys	Arg	Phe	Gly	Arg	Ser	His	Ser	Arg	Ser	Glu	Ala	Gln	Ala	
	130					135					140					
Pro	Ser	Gly	Leu	Glu	Ser	Ala	Leu	Ala	Ala	Arg	Ala	Ala	Arg	Arg	Gln	
	145				150					155					160	
Arg	Ala	Gln	Leu	Asp	Arg	Thr	Arg	Ser	Gly	Ala	His	Lys	Ala	Leu	Arg	
				165					170					175		
Gly	Leu	Arg	Phe	Ile	Ser	Ser	Asn	Lys	Ala	Asn	Asn	Ala	Trp	Met	Glu	
			180					185					190			
Val	Gln	Ala	Asn	Phe	Asp	Arg	Leu	Ala	Arg	Asp	Gly	Tyr	Leu	Ser	Arg	
		195					200					205				
Ser	Asp	Phe	Ala	Glu	Cys	Ile	Gly	Met	Thr	Glu	Ser	Lys	Glu	Phe	Ala	
	210					215					220					
Leu	Glu	Leu	Phe	Asp	Thr	Leu	Ser	Arg	Arg	Arg	Gln	Met	Lys	Val	Asp	
	225				230					235					240	
Thr	Ile	Asn	Lys	Asp	Glu	Leu	Arg	Glu	Ile	Trp	Gln	Gln	Ile	Thr	Asp	
				245					250					255		
Asn	Ser	Phe	Asp	Ser	Arg	Leu	Gln	Ile	Phe	Phe	Glu	Met	Val	Asp	Lys	
			260					265					270			
Asn	Ala	Asp	Gly	Arg	Ile	Thr	Glu	Ala	Glu	Val	Lys	Glu	Ile	Ile	Met	
		275					280					285				
Leu	Ser	Ala	Ser	Ala	Asn	Lys	Leu	Ser	Arg	Leu	Lys	Glu	Gln	Ala	Glu	
	290					295					300					
Glu	Tyr	Ala	Ala	Leu	Ile	Met	Glu	Glu	Leu	Asp	Pro	Glu	Gly	Leu	Gly	
	305				310					315					320	
Tyr	Ile	Glu	Leu	Trp	Gln	Leu	Glu	Thr	Leu	Leu	Leu	Gln	Lys	Asp	Thr	
				325				330						335		
Tyr	Met	Asn	Tyr	Ser	Gln	Ala	Leu	Ser	Tyr	Thr	Ser	Gln	Ala	Leu	Ser	
			340					345					350			
Gln	Asn	Leu	Ala	Gly	Leu	Arg	Lys	Lys	Ser	Ser	Ile	Arg	Lys	Ile	Ser	
		355					360					365				
Thr	Ser	Leu	Ser	Tyr	Tyr	Phe	Glu	Asp	Asn	Trp	Lys	Arg	Leu	Trp	Val	
	370					375					380					
Leu	Ala	Leu	Trp	Ile	Gly	Ile	Met	Ala	Gly	Leu	Phe	Thr	Trp	Lys	Phe	
	385				390					395					400	
Met	Gln	Tyr	Arg	Asn	Arg	Tyr	Val	Phe	Asp	Val	Met	Gly	Tyr	Cys	Val	
				405					410					415		

Thr	Thr	Ala	Lys	Gly	Ala	Ala	Glu	Thr	Leu	Lys	Leu	Asn	Met	Ala	Ile	
			420						425				430			
Ile	Leu	Leu	Pro	Val	Cys	Arg	Asn	Thr	Ile	Thr	Trp	Leu	Arg	Ser	Thr	
			435				440					445				
Arg	Ala	Ala	Arg	Ala	Leu	Pro	Phe	Asp	Asp	Asn	Ile	Asn	Phe	His	Lys	
			450			455					460					
Thr	Ile	Ala	Ala	Ala	Ile	Val	Val	Gly	Ile	Ile	Leu	His	Ala	Gly	Asn	
465					470					475					480	
His	Leu	Val	Cys	Asp	Phe	Pro	Arg	Leu	Ile	Lys	Ser	Ser	Asp	Glu	Lys	
			485						490					495		
Tyr	Ala	Pro	Leu	Gly	Gln	Tyr	Phe	Gly	Glu	Ile	Lys	Pro	Thr	Tyr	Phe	
			500					505					510			
Thr	Leu	Val	Lys	Gly	Val	Glu	Gly	Ile	Thr	Gly	Val	Ile	Met	Val	Val	
			515				520					525				
Cys	Met	Ile	Ile	Ala	Phe	Thr	Leu	Ala	Thr	Arg	Trp	Phe	Arg	Arg	Ser	
			530			535					540					
Leu	Val	Lys	Leu	Pro	Arg	Pro	Phe	Asp	Lys	Leu	Thr	Gly	Phe	Asn	Ala	
545					550					555					560	
Phe	Trp	Tyr	Ser	His	His	Leu	Phe	Ile	Ile	Val	Tyr	Ile	Ala	Leu	Ile	
				565					570						575	
Val	His	Gly	Glu	Cys	Leu	Tyr	Leu	Ile	His	Val	Trp	Tyr	Arg	Arg	Thr	
			580					585					590			
Thr	Trp	Met	Tyr	Leu	Ser	Val	Pro	Val	Cys	Leu	Tyr	Val	Gly	Glu	Arg	
		595					600					605				
Ile	Leu	Arg	Phe	Phe	Arg	Ser	Gly	Ser	Tyr	Ser	Val	Arg	Leu	Leu	Lys	
		610				615					620					
Val	Ala	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Val	Leu	Thr	Leu	Gln	Met	Ser	Lys	Pro	
625					630					635					640	
Pro	Thr	Phe	Arg	Tyr	Lys	Ser	Gly	Gln	Tyr	Met	Phe	Val	Gln	Cys	Pro	
				645					650					655		
Ala	Val	Ser	Pro	Phe	Glu	Trp	His	Pro	Phe	Ser	Ile	Thr	Ser	Ala	Pro	
			660					665						670		
Gly	Asp	Asp	Tyr	Leu	Ser	Ile	His	Val	Arg	Gln	Leu	Gly	Asp	Trp	Thr	
		675				680						685				
Arg	Glu	Leu	Lys	Arg	Val	Phe	Ala	Ala	Ala	Cys	Glu	Pro	Pro	Ala	Gly	
			690			695					700					
Gly	Lys	Ser	Gly	Leu	Leu	Arg	Ala	Asp	Glu	Thr	Thr	Lys	Lys	Ile	Leu	
705					710					715					720	
Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Asp	Gly	Pro	Tyr	Gly	Ser	Pro	Ala	Gln	Asp	Tyr	
				725					730					735		
Ser	Lys	Tyr	Asp	Val	Leu	Leu	Leu	Val	Gly	Leu	Gly	Ile	Gly	Ala	Thr	
			740					745					750			
Pro	Phe	Ile	Ser	Ile	Leu	Lys	Asp	Leu	Leu	Asn	Asn	Ile	Ile	Lys	Met	
			755				760						765			
Glu	Glu	Glu	Glu	Asp	Ala	Ser	Thr	Asp	Leu	Tyr	Pro	Pro	Met	Gly	Arg	
			770			775					780					
Asn	Lys	Pro	His	Val	Asp	Leu	Gly	Thr	Leu	Met	Thr	Ile	Thr	Ser	Arg	
785					790					795					800	

8

Pro	Lys	Lys	Ile	Leu	Lys	Thr	Thr	Asn	Ala	Tyr	Phe	Tyr	Trp	Val	Thr	
				805					810					815		
Arg	Glu	Gln	Gly	Ser	Phe	Asp	Trp	Phe	Lys	Gly	Val	Met	Asn	Glu	Ile	
			820					825					830			
Ala	Asp	Leu	Asp	Gln	Arg	Asn	Ile	Ile	Glu	Met	His	Asn	Tyr	Leu	Thr	
		835				840						845				
Ser	Val	Tyr	Glu	Glu	Gly	Asp	Ala	Arg	Ser	Ala	Leu	Ile	Thr	Met	Leu	
	850					855					860					
Gln	Ala	Leu	Asn	His	Ala	Lys	Asn	Gly	Val	Asp	Ile	Val	Ser	Gly	Thr	
865				870						875					880	
Lys	Val	Arg	Thr	His	Phe	Ala	Arg	Pro	Asn	Trp	Arg	Lys	Val	Leu	Ser	
			885						890					895		
Lys	Ile	Ser	Ser	Lys	His	Pro	Tyr	Ala	Lys	Ile	Gly	Val	Phe	Tyr	Cys	
			900					905					910			
Gly	Ala	Pro	Val	Leu	Ala	Gln	Glu	Leu	Ser	Lys	Leu	Cys	His	Glu	Phe	
		915				920						925				
Asn	Gly	Lys	Cys	Thr	Thr	Lys	Phe	Glu	Phe	His	Lys	Glu	His	Phe		
	930					935					940					

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 2889

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Nicotiana tabacum

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(2886)

&lt;223&gt; coding for NADPH-oxidase

&lt;400&gt; 5

atg	agg	ggg	tta	cct	ggg	cat	gaa	cgc	cgg	tgg	aca	tcc	gat	acg	gta	48
Met	Arg	Gly	Leu	Pro	Gly	His	Glu	Arg	Arg	Trp	Thr	Ser	Asp	Thr	Val	
1				5					10					15		
tct	tcc	gac	aag	gat	ttt	agt	ggg	gaa	tta	tcg	ccg	gga	gct	gat	tcc	96
Ser	Ser	Asp	Lys	Asp	Phe	Ser	Gly	Glu	Leu	Ser	Pro	Gly	Ala	Asp	Ser	
		20					25					30				
ggc	tat	aat	tcc	ggg	ttt	gct	tcc	gag	gag	ttt	gtt	gaa	gtc	acg	ctt	144
Gly	Tyr	Asn	Ser	Gly	Phe	Ala	Ser	Glu	Glu	Phe	Val	Glu	Val	Thr	Leu	
		35					40					45				
gat	ctt	cag	gat	gat	gat	acc	att	att	cta	cgg	agc	gtt	gaa	ccg	gct	192
Asp	Leu	Gln	Asp	Asp	Asp	Thr	Ile	Ile	Leu	Arg	Ser	Val	Glu	Pro	Ala	
	50					55				60						
act	gtg	att	aac	att	gac	gct	cct	gat	ctt	ccc	gcc	gga	gtc	ggg	att	240
Thr	Val	Ile	Asn	Ile	Asp	Ala	Pro	Asp	Leu	Pro	Ala	Gly	Val	Gly	Ile	
65				70					75					80		
tcc	gga	gtt	tca	att	gaa	act	ccg	acg	tca	gca	tcg	gtg	tcg	gaa	tct	288
Ser	Gly	Val	Ser	Ile	Glu	Thr	Pro	Thr	Ser	Ala	Ser	Val	Ser	Glu	Ser	
			85						90					95		
cga	tcg	ccg	acg	atc	cgc	cgg	agt	tca	tct	agt	aaa	ctt	cgt	cag	ttt	336
Arg	Ser	Pro	Thr	Ile	Arg	Arg	Ser	Ser	Ser	Ser	Lys	Leu	Arg	Gln	Phe	
			100					105					110			

tca cag gag ttg aaa gct gag gcg gtt gcg aaa gcg agg cag ttt tca	384
Ser Gln Glu Leu Lys Ala Glu Ala Val Ala Lys Ala Arg Gln Phe Ser	
115 120 125	
caa gag ctg aag gcg gag tta agg aga ttc tca tgg agc cat ggg cat	432
Gln Glu Leu Lys Ala Glu Leu Arg Arg Phe Ser Trp Ser His Gly His	
130 135 140	
gcg tct cgc gcg ttt tcg ccc tcg tcg ttt ttt caa aac gcc gtc gtt	480
Ala Ser Arg Ala Phe Ser Pro Ser Ser Phe Phe Gln Asn Ala Val Val	
145 150 155 160	
gga aca ggt aac ggc gtg gac tcg gct tta gcg gca cgt gca tta cgt	528
Gly Thr Gly Asn Gly Val Asp Ser Ala Leu Ala Ala Arg Ala Leu Arg	
165 170 175	
cgg caa cgc gcg cag ctt gat cgg act cgt tcc agc gcc cat aga gct	576
Arg Gln Arg Ala Gln Leu Asp Arg Thr Arg Ser Ser Ala His Arg Ala	
180 185 190	
ctt cgt aga ctc aaa ttc att agc aat aac aaa acc aat gga tgg aat	624
Glu Arg Arg Leu Lys Phe Ile Ser Asn Asn Lys Thr Asn Gly Trp Asn	
195 200 205	
gaa gtt gaa aac aat ttc tca aag ctc gct aaa gac ggt tat ctt tac	672
Glu Val Glu Asn Asn Phe Ser Lys Leu Ala Lys Asp Gly Tyr Leu Tyr	
210 215 220	
cgt tcc gat ttc gca caa tgc ata ggt atg aag gat tcg aag gaa ttt	720
Arg Ser Asp Phe Ala Gln Cys Ile Gly Met Lys Asp Ser Lys Glu Phe	
225 230 235 240	
gca ttg gaa tta ttt gat gct ttg agt aga aga aga aga tta aag gtt	768
Ala Leu Glu Leu Phe Asp Ala Leu Ser Arg Arg Arg Arg Leu Lys Val	
245 250 255	
gat aaa att agc aag gag gaa ttg tat gag tac tgg tct caa atc acc	816
Asp Lys Ile Ser Lys Glu Glu Leu Tyr Glu Tyr Trp Ser Gln Ile Thr	
260 265 270	
gat cag agt ttc gat tct cgg ctt cag atc tcc ttc gac atg gtg gac	864
Asp Gln Ser Phe Asp Ser Arg Leu Gln Ile Ser Phe Asp Met Val Asp	
275 280 285	
aag aat gaa gat ggt cga att gct gaa gag gaa gta aaa gag atc atc	912
Lys Asn Glu Asp Gly Arg Ile Ala Glu Glu Glu Val Lys Glu Ile Ile	
290 295 300	
atg cta agt gca tct gca aac aag tta tca aga tta aaa gaa caa gca	960
Met Leu Ser Ala Ser Ala Asn Lys Leu Ser Arg Leu Lys Glu Gln Ala	
305 310 315 320	
gag gag tat gca gct tta atc atg gaa gaa tta gat cct gaa aga ctc	1008
Glu Glu Tyr Ala Ala Leu Ile Met Glu Glu Leu Asp Pro Glu Arg Leu	
325 330 335	
ggc tac att gag cta tgg cag ctg gaa aca ctt ctc ctc caa aag gac	1056
Gly Tyr Ile Glu Leu Trp Gln Leu Glu Thr Leu Leu Leu Lys Asp	
340 345 350	
act tac ctc aac tac agt caa gca cta agt tac acg agc caa gcc ttg	1104
Thr Tyr Leu Asn Tyr Ser Gln Ala Leu Ser Tyr Thr Ser Gln Ala Leu	
355 360 365	
agc caa aac ctt cac gga tta agg aag aaa agc cca ata aaa aga atg	1152
Ser Gln Asn Leu His Gly Leu Arg Lys Lys Ser Pro Ile Lys Arg Met	
370 375 380	

10

agc	aca	aaa	ctt	gtc	tat	tca	ttg	caa	gaa	aac	tgg	aag	aga	att	tgg	1200
Ser	Thr	Lys	Leu	Val	Tyr	Ser	Leu	Gln	Glu	Asn	Trp	Lys	Arg	Ile	Trp	
385					390					395					400	
ggt	ctc	act	tta	tgg	att	ttg	ata	atg	att	ggg	ctt	ttt	ctt	tgg	aag	1248
Val	Leu	Thr	Leu	Trp	Ile	Leu	Ile	Met	Ile	Gly	Leu	Phe	Leu	Trp	Lys	
			405						410					415		
ttc	tat	cag	tac	aaa	aac	aag	agt	gca	ttc	cgt	gtc	atg	ggg	tat	tgc	1296
Phe	Tyr	Gln	Tyr	Lys	Asn	Lys	Ser	Ala	Phe	Arg	Val	Met	Gly	Tyr	Cys	
			420					425					430			
ctt	gtc	acg	gct	aag	ggc	gct	gct	gag	act	ctc	aag	ttc	aac	atg	gct	1344
Leu	Val	Thr	Ala	Lys	Gly	Ala	Ala	Glu	Thr	Leu	Lys	Phe	Asn	Met	Ala	
			435				440					445				
ctt	ata	tta	ttg	cca	gta	tgc	aga	aac	act	att	aca	tgg	ctc	agg	tcc	1392
Leu	Ile	Leu	Leu	Pro	Val	Cys	Arg	Asn	Thr	Ile	Thr	Trp	Leu	Arg	Ser	
	450					455					460					
acc	aag	ttg	agc	cat	ttt	gta	ccc	ttt	gac	gac	aac	atc	aac	ttt	cac	1440
Leu	Lys	Leu	Ser	His	Phe	Val	Pro	Phe	Asp	Asp	Asn	Ile	Asn	Phe	His	
					470				475						480	
aag	act	gtc	gct	gca	gcc	att	gtc	act	ggg	atc	ata	ctc	cat	gct	ggg	1488
Lys	Thr	Val	Ala	Ala	Ala	Ile	Val	Thr	Gly	Ile	Ile	Leu	His	Ala	Gly	
				485					490					495		
aac	cat	ctt	gta	tgt	gat	ttc	cca	agg	ctt	ata	cat	gca	gat	gat	caa	1536
Asn	His	Leu	Val	Cys	Asp	Phe	Pro	Arg	Leu	Ile	His	Ala	Asp	Asp	Gln	
			500					505					510			
gat	tat	caa	agt	ttt	ttg	tcg	aat	gat	ttt	ggc	caa	agt	aag	cct	gga	1584
Asp	Tyr	Gln	Ser	Phe	Leu	Ser	Asn	Asp	Phe	Gly	Gln	Ser	Lys	Pro	Gly	
		515					520					525				
tac	ata	gac	ctt	ggt	aaa	gga	ggt	gag	ggg	gtg	acg	gga	ata	ata	atg	1632
Tyr	Ile	Asp	Leu	Val	Lys	Gly	Val	Glu	Gly	Val	Thr	Gly	Ile	Ile	Met	
	530					535					540					
gta	atc	ctt	atg	gcc	att	gct	ttc	act	ctt	gct	aca	cga	tgg	ttt	aga	1680
Val	Ile	Leu	Met	Ala	Ile	Ala	Phe	Thr	Leu	Ala	Thr	Arg	Trp	Phe	Arg	
	545				550					555					560	
cgg	agc	ctc	att	aag	ttg	ccc	aaa	cct	ttt	gat	aga	ctc	act	ggc	ttc	1728
Arg	Ser	Leu	Ile	Lys	Leu	Pro	Lys	Pro	Phe	Asp	Arg	Leu	Thr	Gly	Phe	
				565					570					575		
aat	gca	ttc	tgg	tat	tca	cac	cac	ctt	ctt	gtc	att	gtc	tac	atc	cta	1776
Asn	Ala	Phe	Trp	Tyr	Ser	His	His	Leu	Leu	Val	Ile	Val	Tyr	Ile	Leu	
			580					585					590			
ctg	atc	atc	cat	ggc	acg	ttc	ctc	ttc	ctt	gtg	cat	aaa	tgg	tac	tcc	1824
Leu	Ile	Ile	His	Gly	Thr	Phe	Leu	Phe	Leu	Val	His	Lys	Trp	Tyr	Ser	
		595					600					605				
aag	acg	acg	tgg	atg	tat	cta	gca	ggt	cct	gtg	ctt	ctc	tac	gca	ggg	1872
Lys	Thr	Thr	Trp	Met	Tyr	Leu	Ala	Val	Pro	Val	Leu	Leu	Tyr	Ala	Gly	
		610				615					620					
gaa	aga	act	ctt	aga	ttc	ttc	cgg	tca	ggc	ttg	tac	act	gtc	cgg	ctt	1920
Glu	Arg	Thr	Leu	Arg	Phe	Phe	Arg	Ser	Gly	Leu	Tyr	Thr	Val	Arg	Leu	
	625				630					635					640	
ctg	aaa	gta	gca	ata	tat	cct	gga	aat	gtc	ctc	act	cta	caa	atg	tct	1968
Leu	Lys	Val	Ala	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Val	Leu	Thr	Leu	Gln	Met	Ser	
				645					650					655		

aag cct cct caa ttt cga tac aaa agt gga caa tat atg ttt gtc cag	2016
Lys Pro Pro Gln Phe Arg Tyr Lys Ser Gly Gln Tyr Met Phe Val Gln	
660 665 670	
tgt cca gct gtt tct cca ttc gag tgg cat cca ttt tcc att act tca	2064
Cys Pro Ala Val Ser Pro Phe Glu Trp His Pro Phe Ser Ile Thr Ser	
675 680 685	
gct cct ggg gat gac tac ttg agc att cac atc cgg caa ctt ggt gac	2112
Ala Pro Gly Asp Asp Tyr Leu Ser Ile His Ile Arg Gln Leu Gly Asp	
690 695 700	
tgg act caa gaa ctc aag cgg gtc ttt tct gag gct tgc gag cgg cca	2160
Trp Thr Gln Glu Leu Lys Arg Val Phe Ser Glu Ala Cys Glu Arg Pro	
705 710 715 720	
gag gct gga aag agt ggc ctg ctc aga gct gac gaa aac act aag aaa	2208
Glu Ala Gly Lys Ser Gly Leu Leu Arg Ala Asp Glu Asn Thr Lys Lys	
725 730 735	
agt ttg cca aag cta tta ata gat gga cct tac gga gct cca gca caa	2256
Leu Pro Lys Leu Leu Ile Asp Gly Pro Tyr Gly Ala Pro Ala Gln	
740 745 750	
gat tac cga aaa tat gat gtc ttg ctg ctt gtt ggt ctt ggc att gga	2304
Asp Tyr Arg Lys Tyr Asp Val Leu Leu Leu Val Gly Leu Gly Ile Gly	
755 760 765	
gca acg ccg ttc ata agt atc ctg aaa gac ttg ctc gtt aac atc gtg	2352
Ala Thr Pro Phe Ile Ser Ile Leu Lys Asp Leu Val Asn Ile Val	
770 775 780	
aaa atg gag gag caa gca gat tta gcc tca gat ttc agt ggg aac tca	2400
Lys Met Glu Glu Gln Ala Asp Leu Ala Ser Asp Phe Ser Gly Asn Ser	
785 790 795 800	
gac atg agc gtt gcg aca agt gaa caa cca gct ctc aac aag att tct	2448
Asp Met Ser Val Ala Thr Ser Glu Gln Pro Ala Leu Asn Lys Ile Ser	
805 810 815	
ctg aaa agg aga aag agc act cta aga acc aca aat gca tat ttt tat	2496
Leu Lys Arg Arg Lys Ser Thr Leu Arg Thr Thr Asn Ala Tyr Phe Tyr	
820 825 830	
tgg gtg acc cgg gag caa gga tca ttt gat tgg ttc aaa ggc gtt atg	2544
Trp Val Thr Arg Glu Gln Gly Ser Phe Asp Trp Phe Lys Gly Val Met	
835 840 845	
aac gaa gtg gct gaa ctt gat caa agg ggg gtc atc gag atg cat aac	2592
Asn Glu Val Ala Glu Leu Asp Gln Arg Gly Val Ile Glu Met His Asn	
850 855 860	
tac ttg acg agt gtt tat gag gaa ggg gat gct cgt tca gct ctc att	2640
Tyr Leu Thr Ser Val Tyr Glu Glu Gly Asp Ala Arg Ser Ala Leu Ile	
865 870 875 880	
acc atg gtc cag gca ctt aac cat gct aag aat ggg gtt gat att gta	2688
Thr Met Val Gln Ala Leu Asn His Ala Lys Asn Gly Val Asp Ile Val	
885 890 895	
tca ggc acc agg gtg agg aca cat ttt gct agg cca aat tgg aag aaa	2736
Ser Gly Thr Arg Val Arg Thr His Phe Ala Arg Pro Asn Trp Lys Lys	
900 905 910	
gta ttt tcc aag acc tta acc aag cat gca aat gca aga ata ggg gtt	2784
Val Phe Ser Lys Thr Leu Thr Lys His Ala Asn Ala Arg Ile Gly Val	
915 920 925	

12

ttc tac tgt ggt gca ccc gta tta gca aaa gaa ctc agc aaa ctc tgc 2832  
 Phe Tyr Cys Gly Ala Pro Val Leu Ala Lys Glu Leu Ser Lys Leu Cys  
 930 935 940

aaa gag tat aat caa aag ggt gca aca aag ttc gag ttt cac aaa gaa 2880  
 Lys Glu Tyr Asn Gln Lys Gly Ala Thr Lys Phe Glu Phe His Lys Glu  
 945 950 955 960

cat ttt tag 2889  
 His Phe

<210> 6

<211> 962

<212> PRT

<213> Nicotiana tabacum

<400> 6

Met Arg Gly Leu Pro Gly His Glu Arg Arg Trp Thr Ser Asp Thr Val  
 1 5 10 15

Ser Ser Asp Lys Asp Phe Ser Gly Glu Leu Ser Pro Gly Ala Asp Ser  
 20 25 30

Tyr Tyr Asn Ser Gly Phe Ala Ser Glu Glu Phe Val Glu Val Thr Leu  
 35 40 45

Asp Leu Gln Asp Asp Asp Thr Ile Ile Leu Arg Ser Val Glu Pro Ala  
 50 55 60

Thr Val Ile Asn Ile Asp Ala Pro Asp Leu Pro Ala Gly Val Gly Ile  
 65 70 75 80

Ser Gly Val Ser Ile Glu Thr Pro Thr Ser Ala Ser Val Ser Glu Ser  
 85 90 95

Arg Ser Pro Thr Ile Arg Arg Ser Ser Ser Ser Lys Leu Arg Gln Phe  
 100 105 110

Ser Gln Glu Leu Lys Ala Glu Ala Val Ala Lys Ala Arg Gln Phe Ser  
 115 120 125

Gln Glu Leu Lys Ala Glu Leu Arg Arg Phe Ser Trp Ser His Gly His  
 130 135 140

Ala Ser Arg Ala Phe Ser Pro Ser Ser Phe Phe Gln Asn Ala Val Val  
 145 150 155 160

Gly Thr Gly Asn Gly Val Asp Ser Ala Leu Ala Ala Arg Ala Leu Arg  
 165 170 175

Arg Gln Arg Ala Gln Leu Asp Arg Thr Arg Ser Ser Ala His Arg Ala  
 180 185 190

Leu Arg Arg Leu Lys Phe Ile Ser Asn Asn Lys Thr Asn Gly Trp Asn  
 195 200 205

Glu Val Glu Asn Asn Phe Ser Lys Leu Ala Lys Asp Gly Tyr Leu Tyr  
 210 215 220

Arg Ser Asp Phe Ala Gln Cys Ile Gly Met Lys Asp Ser Lys Glu Phe  
 225 230 235 240

Ala Leu Glu Leu Phe Asp Ala Leu Ser Arg Arg Arg Arg Leu Lys Val  
 245 250 255

Asp Lys Ile Ser Lys Glu Glu Leu Tyr Glu Tyr Trp Ser Gln Ile Thr  
 260 265 270

Asp Gln Ser Phe Asp Ser Arg Leu Gln Ile Ser Phe Asp Met Val Asp  
 275 280 285

## 13

Lys Asn Glu Asp Gly Arg Ile Ala Glu Glu Glu Val Lys Glu Ile Ile  
 290 295 300  
 Met Leu Ser Ala Ser Ala Asn Lys Leu Ser Arg Leu Lys Glu Gln Ala  
 305 310 315 320  
 Glu Glu Tyr Ala Ala Leu Ile Met Glu Glu Leu Asp Pro Glu Arg Leu  
 325 330 335  
 Gly Tyr Ile Glu Leu Trp Gln Leu Glu Thr Leu Leu Leu Gln Lys Asp  
 340 345 350  
 Thr Tyr Leu Asn Tyr Ser Gln Ala Leu Ser Tyr Thr Ser Gln Ala Leu  
 355 360 365  
 Ser Gln Asn Leu His Gly Leu Arg Lys Lys Ser Pro Ile Lys Arg Met  
 370 375 380  
 Ser Thr Lys Leu Val Tyr Ser Leu Gln Glu Asn Trp Lys Arg Ile Trp  
 385 390 395 400  
 Val Leu Thr Leu Trp Ile Leu Ile Met Ile Gly Leu Phe Leu Trp Lys  
 405 410 415  
 Le Tyr Gln Tyr Lys Asn Lys Ser Ala Phe Arg Val Met Gly Tyr Cys  
 420 425 430  
 Leu Val Thr Ala Lys Gly Ala Ala Glu Thr Leu Lys Phe Asn Met Ala  
 435 440 445  
 Leu Ile Leu Leu Pro Val Cys Arg Asn Thr Ile Thr Trp Leu Arg Ser  
 450 455 460  
 Thr Lys Leu Ser His Phe Val Pro Phe Asp Asp Asn Ile Asn Phe His  
 465 470 475 480  
 Lys Thr Val Ala Ala Ala Ile Val Thr Gly Ile Ile Leu His Ala Gly  
 485 490 495  
 Asn His Leu Val Cys Asp Phe Pro Arg Leu Ile His Ala Asp Asp Gln  
 500 505 510  
 Asp Tyr Gln Ser Phe Leu Ser Asn Asp Phe Gly Gln Ser Lys Pro Gly  
 515 520 525  
 Tyr Ile Asp Leu Val Lys Gly Val Glu Gly Val Thr Gly Ile Ile Met  
 530 535 540  
 Val Ile Leu Met Ala Ile Ala Phe Thr Leu Ala Thr Arg Trp Phe Arg  
 545 550 555 560  
 Arg Ser Leu Ile Lys Leu Pro Lys Pro Phe Asp Arg Leu Thr Gly Phe  
 565 570 575  
 Asn Ala Phe Trp Tyr Ser His His Leu Leu Val Ile Val Tyr Ile Leu  
 580 585 590  
 Leu Ile Ile His Gly Thr Phe Leu Phe Leu Val His Lys Trp Tyr Ser  
 595 600 605  
 Lys Thr Thr Trp Met Tyr Leu Ala Val Pro Val Leu Leu Tyr Ala Gly  
 610 615 620  
 Glu Arg Thr Leu Arg Phe Phe Arg Ser Gly Leu Tyr Thr Val Arg Leu  
 625 630 635 640  
 Leu Lys Val Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Val Leu Thr Leu Gln Met Ser  
 645 650 655  
 Lys Pro Pro Gln Phe Arg Tyr Lys Ser Gly Gln Tyr Met Phe Val Gln  
 660 665 670

[illegible]

ggcacgagaa taaccaa<sup>aa</sup>ac ttttgg<sup>tc</sup>cag gcttctgcag aaaactctgt tttcaacata 60

15

tatttattta ttgtgctttg atttgggaca a atg agg ggt tta cct ggg cat	112
Met Arg Gly Leu Pro Gly His	
1 5	
gaa cgc cgg tgg acg tcg gat acg gta tct tcc ggc aag gat tta agt	160
Glu Arg Arg Trp Thr Ser Asp Thr Val Ser Ser Gly Lys Asp Leu Ser	
10 15 20	
ggt gag tca tcg ccg gga act gat tcc ggg aat att tcc ggt ttt gct	208
Gly Glu Ser Ser Pro Gly Thr Asp Ser Gly Asn Ile Ser Gly Phe Ala	
25 30 35	
tcc gag gag ttt gtt gaa gtt ata ctt gat ctt cag gat gat gat acg	256
Ser Glu Glu Phe Val Glu Val Ile Leu Asp Leu Gln Asp Asp Asp Thr	
40 45 50 55	
att att cta cgg agc gtt gaa ccg gct act gta atc aac att gat gct	304
Ile Ile Leu Arg Ser Val Glu Pro Ala Thr Val Ile Asn Ile Asp Ala	
60 65 70	
tct gat cct gct acc gga gtc ggt att ggt gga gta tcg att gaa act	352
Thr Asp Pro Ala Thr Gly Val Gly Ile Gly Gly Val Ser Ile Glu Thr	
75 80 85	
tcg gcg tcg ctg act tcg acg tcg gga act cga tcg ccg acg atg cgt	400
Pro Ala Ser Leu Thr Ser Thr Ser Gly Thr Arg Ser Pro Thr Met Arg	
90 95 100	
cgg agt aca tcg aat aaa tta cgt cag ttt tca cag gag ttg aaa gct	448
Arg Ser Thr Ser Asn Lys Leu Arg Gln Phe Ser Gln Glu Leu Lys Ala	
105 110 115	
gag gct gtc gcg aaa gcg aag cat ttc tcg caa gag ctt aaa gcg gag	496
Glu Ala Val Ala Lys Ala Lys His Phe Ser Gln Glu Leu Lys Ala Glu	
120 125 130 135	
cta agg aga ttc tca tgg agc cat gga cat gcg tct cgc act ttt tcg	544
Leu Arg Arg Phe Ser Trp Ser His Gly His Ala Ser Arg Thr Phe Ser	
140 145 150	
ccg gcg tcg ttt ttc caa aac gcc gtc gtc ggt aca ggc aac ggt gta	592
Pro Ala Ser Phe Phe Gln Asn Ala Val Val Gly Thr Gly Asn Gly Val	
155 160 165	
gat tcg gct tta gca gct cga gca tta cga cgg cag cgc gct cag ctc	640
Asp Ser Ala Leu Ala Ala Arg Ala Leu Arg Arg Gln Arg Ala Gln Leu	
170 175 180	
gat cgg act cgt tcc agc gct cac aag gct ctt cgt gga ctc aaa ttc	688
Asp Arg Thr Arg Ser Ser Ala His Lys Ala Leu Arg Gly Leu Lys Phe	
185 190 195	
atc agc aat aac aaa act aac gga tgg aat gaa gtt gaa aac aat ttt	736
Ile Ser Asn Asn Lys Thr Asn Gly Trp Asn Glu Val Glu Asn Asn Phe	
200 205 210 215	
gct aag ctc gct aaa gac ggt tac ctt tat cgc tcc gat ttc gca caa	784
Ala Lys Leu Ala Lys Asp Gly Tyr Leu Tyr Arg Ser Asp Phe Ala Gln	
220 225 230	
tgc atc ggt atg aag gat tca aag gaa ttt gca ttg gaa ttg ttt gat	832
Cys Ile Gly Met Lys Asp Ser Lys Glu Phe Ala Leu Glu Leu Phe Asp	
235 240 245	
gct ttg agt aga aga aga aga ttg aag gtt gat aag att agc aaa gag	880
Ala Leu Ser Arg Arg Arg Arg Leu Lys Val Asp Lys Ile Ser Lys Glu	
250 255 260	

16

gaa ttg tat gag tat tgg tct caa atc acc gat cag agt ttc gat tct	928
Glu Leu Tyr Glu Tyr Trp Ser Gln Ile Thr Asp Gln Ser Phe Asp Ser	
265 270 275	
cgg ctt cag atc ttc ttc gac atg gtg gac aag aat gaa gat ggt cga	976
Arg Leu Gln Ile Phe Phe Asp Met Val Asp Lys Asn Glu Asp Gly Arg	
280 285 290 295	
att ggt gaa gaa gaa gta aaa gag atc atc atg cta agt gcc tct gca	1024
Ile Gly Glu Glu Glu Val Lys Glu Ile Ile Met Leu Ser Ala Ser Ala	
300 305 310	
aac aaa tta tca aga tta aaa gaa caa gca gag gag tat gca gct ctg	1072
Asn Lys Leu Ser Arg Leu Lys Glu Gln Ala Glu Glu Tyr Ala Ala Leu	
315 320 325	
atc atg gaa gaa tta gat cct gaa aga ctt ggc tac att gag cta tgg	1120
Ile Met Glu Glu Leu Asp Pro Glu Arg Leu Gly Tyr Ile Glu Leu Trp	
330 335 340	
cag ctg gaa acg ctt ctc ctc caa aag gac act tac ctc aac tac agt	1168
Gln Leu Glu Thr Leu Leu Leu Gln Lys Asp Thr Tyr Leu Asn Tyr Ser	
345 350 355	
caa gca cta agc tac aca agc caa gct ttg agc caa aac ctg caa ggg	1216
Gln Ala Leu Ser Tyr Thr Ser Gln Ala Leu Ser Gln Asn Leu Gln Gly	
360 365 370 375	
ttg agg aag aga agc cca ata aga aga atg agc aca aaa ctt gtc tat	1264
Leu Arg Lys Arg Ser Pro Ile Arg Arg Met Ser Thr Lys Leu Val Tyr	
380 385 390	
tca ctg caa gag aat tgg aag aga att tgg gtt ctg gtc ttg tgg att	1312
Ser Leu Gln Glu Asn Trp Lys Arg Ile Trp Val Leu Val Leu Trp Ile	
395 400 405	
ttg ata atg att gga ctt ttt ctt tgg aag ttc tat ctg tac aaa cag	1360
Leu Ile Met Ile Gly Leu Phe Leu Trp Lys Phe Tyr Leu Tyr Lys Gln	
410 415 420	
aaa agt gca ttt caa gtt atg ggt tat tgc ctt cta aca gct aag ggt	1408
Lys Ser Ala Phe Gln Val Met Gly Tyr Cys Leu Leu Thr Ala Lys Gly	
425 430 435	
gct gct gag act cta aag ttc aac atg gct ttg ata ttg ttg cca gtt	1456
Ala Ala Glu Thr Leu Lys Phe Asn Met Ala Leu Ile Leu Leu Pro Val	
440 445 450 455	
tgc agg aac acc att aca ttc ctc agg tct act aaa ttg agt tgt ttt	1504
Cys Arg Asn Thr Ile Thr Phe Leu Arg Ser Thr Lys Leu Ser Cys Phe	
460 465 470	
gta ccc ttt gat gac aac atc aac ttc cac aag act gtt gct gca gcc	1552
Val Pro Phe Asp Asp Asn Ile Asn Phe His Lys Thr Val Ala Ala Ala	
475 480 485	
att gtt act ggt atc ata ctc cat gcc ggt aat cat ctt gta tgt gat	1600
Ile Val Thr Gly Ile Ile Leu His Ala Gly Asn His Leu Val Cys Asp	
490 495 500	
ttc cca aag ctt ata cat gca aat aat acg aat tat cag aaa tat ttg	1648
Phe Pro Lys Leu Ile His Ala Asn Asn Thr Asn Tyr Gln Lys Tyr Leu	
505 510 515	
gtg aat gat ttt ggc cca agc cag cct cag tac ata gat ctt gtt aaa	1696
Val Asn Asp Phe Gly Pro Ser Gln Pro Gln Tyr Ile Asp Leu Val Lys	
520 525 530 535	

gga gtg gag ggt gtg aca gga ata ata atg gta atc ctc atg gcc att	1744
Gly Val Glu Gly Val Thr Gly Ile Ile Met Val Ile Leu Met Ala Ile	
540 545 550	
gct ttc act ctt gca acg cga tgg ttt agg cgg agc ctc att aag ttt	1792
Ala Phe Thr Leu Ala Thr Arg Trp Phe Arg Arg Ser Leu Ile Lys Phe	
555 560 565	
ccc aaa cct ttt gat aga ctc act ggt ttc aat gcg ttc tgg tac tcg	1840
Pro Lys Pro Phe Asp Arg Leu Thr Gly Phe Asn Ala Phe Trp Tyr Ser	
570 575 580	
cac cac ctt ctc atc att gtc tac atc gta ctg atc atc cat ggc aca	1888
His His Leu Leu Ile Ile Val Tyr Ile Val Leu Ile Ile His Gly Thr	
585 590 595	
ttc ctc tac ctt gtg cat aac tgg tac tcc aaa acg aca tgg atg tat	1936
Phe Leu Tyr Leu Val His Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Thr Trp Met Tyr	
600 605 610 615	
cta gca gtt cct gta ctt ctc tac gca ggg gaa aga act ctt aga ttc	1984
Ala Val Pro Val Leu Leu Tyr Ala Gly Glu Arg Thr Leu Arg Phe	
620 625 630	
ctc cga tca ggc tta tat aca gtc cgg ctt cta aaa gta gca ata tat	2032
Phe Arg Ser Gly Leu Tyr Thr Val Arg Leu Leu Lys Val Ala Ile Tyr	
635 640 645	
cct gga aat gtc ctt act ctg caa atg tct aag cct ccg caa ttt cga	2080
Pro Gly Asn Val Leu Thr Leu Gln Met Ser Lys Pro Pro Gln Phe Arg	
650 655 660	
tac aag agt gga caa tat atg ttt gtc cag tgt cca gct gtt tct cca	2128
Tyr Lys Ser Gly Gln Tyr Met Phe Val Gln Cys Pro Ala Val Ser Pro	
665 670 675	
ttc gag tgg cat cca ttt tcc att act tca gct cct ggg gat gac tac	2176
Phe Glu Trp His Pro Phe Ser Ile Thr Ser Ala Pro Gly Asp Asp Tyr	
680 685 690 695	
ttg agc att cat atc cga caa ctt ggt gac tgg act caa gaa ctc aag	2224
Leu Ser Ile His Ile Arg Gln Leu Gly Asp Trp Thr Gln Glu Leu Lys	
700 705 710	
cgg gtg ttt tcc gag gct tgc gag cag cca gag gct gga aag agt ggc	2272
Arg Val Phe Ser Glu Ala Cys Glu Gln Pro Glu Ala Gly Lys Ser Gly	
715 720 725	
ctg ctc aga gct gac gaa aac acc aaa aca agt ttg cca aag cta ttg	2320
Leu Leu Arg Ala Asp Glu Asn Thr Lys Thr Ser Leu Pro Lys Leu Leu	
730 735 740	
ata gat gga cct tat gga gct cca gca caa gat tac cga aag tat gat	2368
Ile Asp Gly Pro Tyr Gly Ala Pro Ala Gln Asp Tyr Arg Lys Tyr Asp	
745 750 755	
gtc tta ctg ctt gtt ggt ctt ggc att gga gca act ccc ttt ata agt	2416
Val Leu Leu Leu Val Gly Leu Gly Ile Gly Ala Thr Pro Phe Ile Ser	
760 765 770 775	
atc ctg aaa gac ttg ctc aaa aac atc gtc aca atg gag gag caa gca	2464
Ile Leu Lys Asp Leu Leu Lys Asn Ile Val Thr Met Glu Glu Gln Ala	
780 785 790	
gat tta gtc tcg gat ttt tca ggg aac tca gac atg agc gct gca aca	2512
Asp Leu Val Ser Asp Phe Ser Gly Asn Ser Asp Met Ser Ala Ala Thr	
795 800 805	

18

```

agt gaa caa cca gct ctc aac aag att tct cca aaa aag aga aag agt 2560
Ser Glu Gln Pro Ala Leu Asn Lys Ile Ser Pro Lys Lys Arg Lys Ser
      810                      815                      820

act cta aaa acc aca aat gca tat ttt tat tgg gtg acc cgg gag caa 2608
Thr Leu Lys Thr Thr Asn Ala Tyr Phe Tyr Trp Val Thr Arg Glu Gln
      825                      830                      835

gga tca ttt gat tgg ttc aaa ggt gtt atg aac gaa gtg gct gaa ctt 2656
Gly Ser Phe Asp Trp Phe Lys Gly Val Met Asn Glu Val Ala Glu Leu
      840                      845                      850                      855

gat caa agg ggg gtc atc gag atg cat aac tac tta acg agt gtt tat 2704
Asp Gln Arg Gly Val Ile Glu Met His Asn Tyr Leu Thr Ser Val Tyr
      860                      865                      870

gag gaa ggg gat gca cgt tca gct ctc att acc atg gtc cag gcg ctt 2752
Glu Glu Gly Asp Ala Arg Ser Ala Leu Ile Thr Met Val Gln Ala Leu
      875                      880                      885

aac cat gct aag aat ggg gtt gat att gta tca ggc acc agt gtg agg 2800
His Ala Lys Asn Gly Val Asp Ile Val Ser Gly Thr Ser Val Arg
      890                      895                      900

aca cat ttt gcc aga ccg aat tgg agg aaa gta ttt tcc aag acc tta 2848
Thr His Phe Ala Arg Pro Asn Trp Arg Lys Val Phe Ser Lys Thr Leu
      905                      910                      915

acc aag cat gca aat gca aga ata gga gtt ttc tac tgc ggt gca ccc 2896
Thr Lys His Ala Asn Ala Arg Ile Gly Val Phe Tyr Cys Gly Ala Pro
      920                      925                      930                      935

ata tta gct aaa gaa ctc agc aaa ctc tgc aaa gag ttt aac caa aag 2944
Ile Leu Ala Lys Glu Leu Ser Lys Leu Cys Lys Glu Phe Asn Gln Lys
      940                      945                      950

ggc aca acg aag ttc gag ttt cac aaa gaa cat ttt tagaaggccc 2990
Gly Thr Thr Lys Phe Glu Phe His Lys Glu His Phe
      955                      960

tggaggtacaa ttaatcttgc atcaacggta cacacatcgg taaaccagta tttaccacat 3050
ctatcttttg tacctgattt gatgattcta ctgaagacat aacattagta aggaataagt 3110
cagagacaaa ttgtacataa taggaggaag cacatttaca gagaaaatac ataccaatat 3170
gatatgtgta taggttttgt atattcagtc atctgttatc acataccaaa cttcagaact 3230
ccaaaaggga gactctgctt tggctctgatg gcttagaata tgggagggaa aaaaagacga 3290
caattgaatg gtcacgatac acatgaagaa tgagaatatt gggaaacagc taataagaag 3350
ttgaccttct tgataaagaa acactatgaa aatggcaagc atgaaaggac agacaatcat 3410
ggcttggatg gggaaaacaa aatacaattt tgaaagaaga agataatatt agtaggagta 3470
gtgggggact gatagctttg ttggtggaac ttataatggg gctaaggga tccctccaaa 3530
aaatgtctat gtagtaacta ctttttcttt tgctttgtga gtattttttg ggggtatttta 3590
atatactact tattagataa gaggatagaa aatacgtgta tatgcaattc ttattagtaa 3650
agtttatctg tagtagttct ttaatctgga gaaaggtact atcaaaggaa atatctcatc 3710
gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 3733

<210> 8
<211> 963
<212> PRT
<213> Solanum tuberosum

```

&lt;400&gt; 8

Met	Arg	Gly	Leu	Pro	Gly	His	Glu	Arg	Arg	Trp	Thr	Ser	Asp	Thr	Val	
1				5					10					15		
Ser	Ser	Gly	Lys	Asp	Leu	Ser	Gly	Glu	Ser	Ser	Pro	Gly	Thr	Asp	Ser	
			20					25					30			
Gly	Asn	Ile	Ser	Gly	Phe	Ala	Ser	Glu	Glu	Phe	Val	Glu	Val	Ile	Leu	
		35					40					45				
Asp	Leu	Gln	Asp	Asp	Asp	Thr	Ile	Ile	Leu	Arg	Ser	Val	Glu	Pro	Ala	
	50					55					60					
Thr	Val	Ile	Asn	Ile	Asp	Ala	Ser	Asp	Pro	Ala	Thr	Gly	Val	Gly	Ile	
	65				70				75						80	
Gly	Gly	Val	Ser	Ile	Glu	Thr	Pro	Ala	Ser	Leu	Thr	Ser	Thr	Ser	Gly	
				85					90						95	
Thr	Arg	Ser	Pro	Thr	Met	Arg	Arg	Ser	Thr	Ser	Asn	Lys	Leu	Arg	Gln	
			100					105					110			
Ser	Gln	Glu	Leu	Lys	Ala	Glu	Ala	Val	Ala	Lys	Ala	Lys	His	Phe		
	115					120					125					
Ser	Gln	Glu	Leu	Lys	Ala	Glu	Leu	Arg	Arg	Phe	Ser	Trp	Ser	His	Gly	
	130					135						140				
His	Ala	Ser	Arg	Thr	Phe	Ser	Pro	Ala	Ser	Phe	Phe	Gln	Asn	Ala	Val	
	145				150					155					160	
Val	Gly	Thr	Gly	Asn	Gly	Val	Asp	Ser	Ala	Leu	Ala	Ala	Arg	Ala	Leu	
				165					170					175		
Arg	Arg	Gln	Arg	Ala	Gln	Leu	Asp	Arg	Thr	Arg	Ser	Ser	Ala	His	Lys	
				180				185					190			
Ala	Leu	Arg	Gly	Leu	Lys	Phe	Ile	Ser	Asn	Asn	Lys	Thr	Asn	Gly	Trp	
		195					200					205				
Asn	Glu	Val	Glu	Asn	Asn	Phe	Ala	Lys	Leu	Ala	Lys	Asp	Gly	Tyr	Leu	
	210					215					220					
Tyr	Arg	Ser	Asp	Phe	Ala	Gln	Cys	Ile	Gly	Met	Lys	Asp	Ser	Lys	Glu	
	225				230					235					240	
Phe	Ala	Leu	Glu	Leu	Phe	Asp	Ala	Leu	Ser	Arg	Arg	Arg	Arg	Leu	Lys	
				245					250					255		
Val	Asp	Lys	Ile	Ser	Lys	Glu	Glu	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Trp	Ser	Gln	Ile	
				260				265					270			
Thr	Asp	Gln	Ser	Phe	Asp	Ser	Arg	Leu	Gln	Ile	Phe	Phe	Asp	Met	Val	
		275					280					285				
Asp	Lys	Asn	Glu	Asp	Gly	Arg	Ile	Gly	Glu	Glu	Glu	Val	Lys	Glu	Ile	
		290				295					300					
Ile	Met	Leu	Ser	Ala	Ser	Ala	Asn	Lys	Leu	Ser	Arg	Leu	Lys	Glu	Gln	
	305				310					315					320	
Ala	Glu	Glu	Tyr	Ala	Ala	Leu	Ile	Met	Glu	Glu	Leu	Asp	Pro	Glu	Arg	
				325					330					335		
Leu	Gly	Tyr	Ile	Glu	Leu	Trp	Gln	Leu	Glu	Thr	Leu	Leu	Leu	Gln	Lys	
				340				345						350		
Asp	Thr	Tyr	Leu	Asn	Tyr	Ser	Gln	Ala	Leu	Ser	Tyr	Thr	Ser	Gln	Ala	
			355				360					365				

20

Leu	Ser	Gln	Asn	Leu	Gln	Gly	Leu	Arg	Lys	Arg	Ser	Pro	Ile	Arg	Arg	
370						375					380					
Met	Ser	Thr	Lys	Leu	Val	Tyr	Ser	Leu	Gln	Glu	Asn	Trp	Lys	Arg	Ile	
385					390					395					400	
Trp	Val	Leu	Val	Leu	Trp	Ile	Leu	Ile	Met	Ile	Gly	Leu	Phe	Leu	Trp	
				405					410					415		
Lys	Phe	Tyr	Leu	Tyr	Lys	Gln	Lys	Ser	Ala	Phe	Gln	Val	Met	Gly	Tyr	
			420					425					430			
Cys	Leu	Leu	Thr	Ala	Lys	Gly	Ala	Ala	Glu	Thr	Leu	Lys	Phe	Asn	Met	
	435						440					445				
Ala	Leu	Ile	Leu	Leu	Pro	Val	Cys	Arg	Asn	Thr	Ile	Thr	Phe	Leu	Arg	
	450					455					460					
Ser	Thr	Lys	Leu	Ser	Cys	Phe	Val	Pro	Phe	Asp	Asp	Asn	Ile	Asn	Phe	
465					470					475					480	
His	Lys	Thr	Val	Ala	Ala	Ala	Ile	Val	Thr	Gly	Ile	Ile	Leu	His	Ala	
				485					490					495		
Asn	His	Leu	Val	Cys	Asp	Phe	Pro	Lys	Leu	Ile	His	Ala	Asn	Asn		
		500					505					510				
Thr	Asn	Tyr	Gln	Lys	Tyr	Leu	Val	Asn	Asp	Phe	Gly	Pro	Ser	Gln	Pro	
		515					520					525				
Gln	Tyr	Ile	Asp	Leu	Val	Lys	Gly	Val	Glu	Gly	Val	Thr	Gly	Ile	Ile	
	530					535					540					
Met	Val	Ile	Leu	Met	Ala	Ile	Ala	Phe	Thr	Leu	Ala	Thr	Arg	Trp	Phe	
545					550					555					560	
Arg	Arg	Ser	Leu	Ile	Lys	Phe	Pro	Lys	Pro	Phe	Asp	Arg	Leu	Thr	Gly	
			565						570					575		
Phe	Asn	Ala	Phe	Trp	Tyr	Ser	His	His	Leu	Leu	Ile	Ile	Val	Tyr	Ile	
		580						585					590			
Val	Leu	Ile	Ile	His	Gly	Thr	Phe	Leu	Tyr	Leu	Val	His	Asn	Trp	Tyr	
		595					600					605				
Ser	Lys	Thr	Thr	Trp	Met	Tyr	Leu	Ala	Val	Pro	Val	Leu	Leu	Tyr	Ala	
	610					615					620					
Gly	Glu	Arg	Thr	Leu	Arg	Phe	Phe	Arg	Ser	Gly	Leu	Tyr	Thr	Val	Arg	
625					630					635					640	
Leu	Leu	Lys	Val	Ala	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Val	Leu	Thr	Leu	Gln	Met	
				645					650					655		
Ser	Lys	Pro	Pro	Gln	Phe	Arg	Tyr	Lys	Ser	Gly	Gln	Tyr	Met	Phe	Val	
			660					665					670			
Gln	Cys	Pro	Ala	Val	Ser	Pro	Phe	Glu	Trp	His	Pro	Phe	Ser	Ile	Thr	
		675					680					685				
Ser	Ala	Pro	Gly	Asp	Asp	Tyr	Leu	Ser	Ile	His	Ile	Arg	Gln	Leu	Gly	
	690					695					700					
Asp	Trp	Thr	Gln	Glu	Leu	Lys	Arg	Val	Phe	Ser	Glu	Ala	Cys	Glu	Gln	
705					710					715					720	
Pro	Glu	Ala	Gly	Lys	Ser	Gly	Leu	Leu	Arg	Ala	Asp	Glu	Asn	Thr	Lys	
				725					730					735		
Thr	Ser	Leu	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Asp	Gly	Pro	Tyr	Gly	Ala	Pro	Ala	
			740					745					750			

21

Gln Asp Tyr Arg Lys Tyr Asp Val Leu Leu Leu Val Gly Leu Gly Ile  
 755 760 765  
 Gly Ala Thr Pro Phe Ile Ser Ile Leu Lys Asp Leu Leu Lys Asn Ile  
 770 775 780  
 Val Thr Met Glu Glu Gln Ala Asp Leu Val Ser Asp Phe Ser Gly Asn  
 785 790 795 800  
 Ser Asp Met Ser Ala Ala Thr Ser Glu Gln Pro Ala Leu Asn Lys Ile  
 805 810 815  
 Ser Pro Lys Lys Arg Lys Ser Thr Leu Lys Thr Thr Asn Ala Tyr Phe  
 820 825 830  
 Tyr Trp Val Thr Arg Glu Gln Gly Ser Phe Asp Trp Phe Lys Gly Val  
 835 840 845  
 Met Asn Glu Val Ala Glu Leu Asp Gln Arg Gly Val Ile Glu Met His  
 850 855 860  
 Tyr Leu Thr Ser Val Tyr Glu Glu Gly Asp Ala Arg Ser Ala Leu  
 870 875 880  
 Thr Met Val Gln Ala Leu Asn His Ala Lys Asn Gly Val Asp Ile  
 885 890 895  
 Val Ser Gly Thr Ser Val Arg Thr His Phe Ala Arg Pro Asn Trp Arg  
 900 905 910  
 Lys Val Phe Ser Lys Thr Leu Thr Lys His Ala Asn Ala Arg Ile Gly  
 915 920 925  
 Val Phe Tyr Cys Gly Ala Pro Ile Leu Ala Lys Glu Leu Ser Lys Leu  
 930 935 940  
 Cys Lys Glu Phe Asn Gln Lys Gly Thr Thr Lys Phe Glu Phe His Lys  
 945 950 955 960  
 Glu His Phe

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 3316

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Lycopersicon esculentum

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (146)..(3112)

&lt;223&gt; coding for NADPH-oxidase

&lt;400&gt; 9

cgccactcgt gccgaattcg gcacgaggct ctgaaaaact tttcatacaa agccaatcta 60  
 tttctctctc tttcttttgg tcaggcttct acagaaaact ctgttttcaa cgtatattta 120  
 tttattgtca tttgatttgg gacag atg agg ggt tta cct ggg cat gaa cgc 172  
 Met Arg Gly Leu Pro Gly His Glu Arg  
 1 5  
 cgg tgg acg tcg gat acg gtg tct tcc ggg aag gat tta agt ggt gag 220  
 Arg Trp Thr Ser Asp Thr Val Ser Ser Gly Lys Asp Leu Ser Gly Glu 25  
 10 15 20  
 tca tcg ccg gga act gat tcc ggg aat att tcc ggt ttt gct tcg gag 268  
 Ser Ser Pro Gly Thr Asp Ser Gly Asn Ile Ser Gly Phe Ala Ser Glu 40  
 30 35

gag ttt gtt gaa gtt ata ctt gat ctt cag gat gat gat acg att att	316
Glu Phe Val Glu Val Ile Leu Asp Leu Gln Asp Asp Asp Thr Ile Ile	
45 50 55	
tta cgg agc gtt gaa ccg gct act gta atc aac att gat ggt tct gat	364
Leu Arg Ser Val Glu Pro Ala Thr Val Ile Asn Ile Asp Gly Ser Asp	
60 65 70	
cct gct tcc gga gtc ggt att ggt gga gca tcg att gaa act ccg gcg	412
Pro Ala Ser Gly Val Gly Ile Gly Gly Ala Ser Ile Glu Thr Pro Ala	
75 80 85	
tcg gtg acg tcg acg tcg gaa act cga tcg ccg atg atg cgt cgg agt	460
Ser Val Thr Ser Thr Ser Glu Thr Arg Ser Pro Met Met Arg Arg Ser	
90 95 100 105	
aca tct aat aag ttt cgt cag ttt tca cag gag ttg aaa gct gag gct	508
Thr Ser Asn Lys Phe Arg Gln Phe Ser Gln Glu Leu Lys Ala Glu Ala	
110 115 120	
gtt gcg aaa gcg aag cat ttc tcg caa gag ctt aaa gcg gag cta agg	556
Ala Lys Ala Lys His Phe Ser Gln Glu Leu Lys Ala Glu Leu Arg	
125 130 135	
aga ttc tca tgg agc cat gga cat gcg tct cgt gct ttt tcg ccg gcg	604
Arg Phe Ser Trp Ser His Gly His Ala Ser Arg Ala Phe Ser Pro Ala	
140 145 150	
tcg ttt ttc caa aac gct gtc gtc gga aca ggc aac ggt gta gac tcg	652
Ser Phe Phe Gln Asn Ala Val Val Gly Thr Gly Asn Gly Val Asp Ser	
155 160 165	
gct tta gcg gct cga gca tta cgt cgg cag cgt gct cag ctc gac cgg	700
Ala Leu Ala Ala Arg Ala Leu Arg Arg Gln Arg Ala Gln Leu Asp Arg	
170 175 180 185	
act cgt tcc agc gca cac aag gct ctt cgt gga ctc aaa ttc atc agc	748
Thr Arg Ser Ser Ala His Lys Ala Leu Arg Gly Leu Lys Phe Ile Ser	
190 195 200	
aat aac aaa act aac gga tgg aat gaa gtt gaa aac aat ttc gct aag	796
Asn Asn Lys Thr Asn Gly Trp Asn Glu Val Glu Asn Asn Phe Ala Lys	
205 210 215	
ctc gct aaa gac ggt tac ctt tat cgt tcc gat ttc gca caa tgc atc	844
Leu Ala Lys Asp Gly Tyr Leu Tyr Arg Ser Asp Phe Ala Gln Cys Ile	
220 225 230	
ggt cag tac tca cgc cgg cga tca cta cag ttt aat tat aga tta att	892
Gly Gln Tyr Ser Arg Arg Arg Ser Leu Gln Phe Asn Tyr Arg Leu Ile	
235 240 245	
aca tta att ttg att aat tat ttg gtt aaa ggt atg aag gat tca aag	940
Thr Leu Ile Leu Ile Asn Tyr Leu Val Lys Gly Met Lys Asp Ser Lys	
250 255 260 265	
gaa ttt gcg ttg gaa ttg ttt gat gct tta agt aga aga aga aga ttg	988
Glu Phe Ala Leu Glu Leu Phe Asp Ala Leu Ser Arg Arg Arg Arg Leu	
270 275 280	
aag gtt gat aag att agc caa gag gaa ttg tat gag tat tgg tct caa	1036
Lys Val Asp Lys Ile Ser Gln Glu Glu Leu Tyr Glu Tyr Trp Ser Gln	
285 290 295	
atc acc gat cag agt ttc gat tct cgg ctt cag atc ttc ttc gac atg	1084
Ile Thr Asp Gln Ser Phe Asp Ser Arg Leu Gln Ile Phe Phe Asp Met	
300 305 310	

gtg gac aag aat gaa gat ggt cga att ggt gaa gaa gaa gta aaa gag	1132
Val Asp Lys Asn Glu Asp Gly Arg Ile Gly Glu Glu Glu Val Lys Glu	
315 320 325	
atc atc atg cta agt gcc tct gca aac aaa tta tca aga tta aaa gaa	1180
Ile Ile Met Leu Ser Ala Ser Ala Asn Lys Leu Ser Arg Leu Lys Glu	
330 335 340 345	
caa gca gag gag tat gca gct ctg atc atg gaa gaa tta gat cct gaa	1228
Gln Ala Glu Glu Tyr Ala Ala Leu Ile Met Glu Glu Leu Asp Pro Glu	
350 355 360	
aga ctt ggc tac att gag cta tgg cag ctg gaa aca ctt ctc ctc caa	1276
Arg Leu Gly Tyr Ile Glu Leu Trp Gln Leu Glu Thr Leu Leu Leu Gln	
365 370 375	
aag gac act tac ctc aac tac agt caa gca cta agc tac aca agc caa	1324
Lys Asp Thr Tyr Leu Asn Tyr Ser Gln Ala Leu Ser Tyr Thr Ser Gln	
380 385 390	
gct ttg agc caa aat ctg caa ggg ttg agg aag aga agc cca ata aga	1372
Leu Ser Gln Asn Leu Gln Gly Leu Arg Lys Arg Ser Pro Ile Arg	
395 400 405	
aga atg agc aca aaa ctt gtc tat tca ctg caa gag aat tgg aag aga	1420
Arg Met Ser Thr Lys Leu Val Tyr Ser Leu Gln Glu Asn Trp Lys Arg	
410 415 420 425	
att tgg gtt ctg gtc ttg tgg att ttg ata atg att gga ctt ttt ctt	1468
Ile Trp Val Leu Val Leu Trp Ile Leu Ile Met Ile Gly Leu Phe Leu	
430 435 440	
tgg aag ttc tat cag tac aaa cag aaa agt gca ttt caa gtc atg ggt	1516
Trp Lys Phe Tyr Gln Tyr Lys Gln Lys Ser Ala Phe Gln Val Met Gly	
445 450 455	
tat tgc ctt cta aca gct aag ggt gct gct gag act ctc aag ttc aac	1564
Tyr Cys Leu Leu Thr Ala Lys Gly Ala Ala Glu Thr Leu Lys Phe Asn	
460 465 470	
atg gct tta ata ttg ttg cca gta tgc agg aac acc att aca ttc ctc	1612
Met Ala Leu Ile Leu Leu Pro Val Cys Arg Asn Thr Ile Thr Phe Leu	
475 480 485	
agg tct act aaa ttg agc tgt ttt gta ccc ttt gat gac aac ata aac	1660
Arg Ser Thr Lys Leu Ser Cys Phe Val Pro Phe Asp Asp Asn Ile Asn	
490 495 500 505	
ttt cac aag act gtt gct gca gcc att gtc act ggt atc ata ctc cat	1708
Phe His Lys Thr Val Ala Ala Ala Ile Val Thr Gly Ile Ile Leu His	
510 515 520	
gcc ggt aat cac ctt gta tgt gat ttc cca aag ctt ata cat gca aat	1756
Ala Gly Asn His Leu Val Cys Asp Phe Pro Lys Leu Ile His Ala Asn	
525 530 535	
agt acg aat tat cag aaa tat ttg gtg aat gat ttt ggc cca agc cag	1804
Ser Thr Asn Tyr Gln Lys Tyr Leu Val Asn Asp Phe Gly Pro Ser Gln	
540 545 550	
cct cag tac ata gat ctt gtt aaa gga gtg gag ggt gtg act gga ata	1852
Pro Gln Tyr Ile Asp Leu Val Lys Gly Val Glu Gly Val Thr Gly Ile	
555 560 565	
gtt atg gta atc ctc atg gcc att gct ttc act ctt gca acg cga tgg	1900
Val Met Val Ile Leu Met Ala Ile Ala Phe Thr Leu Ala Thr Arg Trp	
570 575 580 585	

24

ttt agg cgg agc ctc att aag tta ccc aaa cct ttt gat aga ctc act	1948
Phe Arg Arg Ser Leu Ile Lys Leu Pro Lys Pro Phe Asp Arg Leu Thr	
590 595 600	
ggt ttc aat gcg ttc tgg tac tcg cac cac ctt ctc atc att gtc tac	1996
Gly Phe Asn Ala Phe Trp Tyr Ser His His Leu Leu Ile Ile Val Tyr	
605 610 615	
atc gta ctg atc atc cat ggc aca ttc ctc tac ctt gtg cat aac tgg	2044
Ile Val Leu Ile Ile His Gly Thr Phe Leu Tyr Leu Val His Asn Trp	
620 625 630	
tac tcc aaa acg aca tgg atg tat ata gca gtt cct gta ctt ctt tac	2092
Tyr Ser Lys Thr Thr Trp Met Tyr Ile Ala Val Pro Val Leu Leu Tyr	
635 640 645	
gca ggg gaa aga act ctt aga ttc ttc cga tca ggc tta tac agt gtc	2140
Ala Gly Glu Arg Thr Leu Arg Phe Phe Arg Ser Gly Leu Tyr Ser Val	
650 655 660 665	
agg ctt cta aaa gta gca ata tat cct gga aat gtc ctt act ctg caa	2188
Leu Leu Lys Val Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Val Leu Thr Leu Gln	
670 675 680	
atg tct aag cct ccg caa ttt cga tac aag agt gga cag tat atg ttt	2236
Met Ser Lys Pro Pro Gln Phe Arg Tyr Lys Ser Gly Gln Tyr Met Phe	
685 690 695	
gtc cag tgt cca gct gtt tct cca ttc gag tgg cat cca ttt tcc att	2284
Val Gln Cys Pro Ala Val Ser Pro Phe Glu Trp His Pro Phe Ser Ile	
700 705 710	
act tca gct cct ggg gat gac tac ttg agc att cat atc cga caa ctt	2332
Thr Ser Ala Pro Gly Asp Asp Tyr Leu Ser Ile His Ile Arg Gln Leu	
715 720 725	
ggt gac tgg act caa gaa ctc aag cga gtg ttt tcc gag gct tgc gag	2380
Gly Asp Trp Thr Gln Glu Leu Lys Arg Val Phe Ser Glu Ala Cys Glu	
730 735 740 745	
cag cca gag gct gga aag agt ggc ctg ctc aga gct gac gaa aac acc	2428
Gln Pro Glu Ala Gly Lys Ser Gly Leu Leu Arg Ala Asp Glu Asn Thr	
750 755 760	
aaa aca agt ttg cca aag cta tta ata gat gga cct tat gga gct cca	2476
Lys Thr Ser Leu Pro Lys Leu Leu Ile Asp Gly Pro Tyr Gly Ala Pro	
765 770 775	
gca caa gat tac ccg aag tat gat gtc tta ctg ctt gtt ggt ctt ggc	2524
Ala Gln Asp Tyr Arg Lys Tyr Asp Val Leu Leu Leu Val Gly Leu Gly	
780 785 790	
att gga gca act ccc ttt ata agt atc ctg aaa gac ttg ctc aaa aac	2572
Ile Gly Ala Thr Pro Phe Ile Ser Ile Leu Lys Asp Leu Leu Lys Asn	
795 800 805	
atc gtc gca atg gag gag caa gca gat tta gtc tcg gat ttc agt gga	2620
Ile Val Ala Met Glu Glu Gln Ala Asp Leu Val Ser Asp Phe Ser Gly	
810 815 820 825	
aac tcg gac atg agt gct gca aca agt gaa caa cca gct ctc aac aag	2668
Asn Ser Asp Met Ser Ala Ala Thr Ser Glu Gln Pro Ala Leu Asn Lys	
830 835 840	
att tct cca aaa aag aga aag agt act cta aaa acc aca aat gca tat	2716
Ile Ser Pro Lys Lys Arg Lys Ser Thr Leu Lys Thr Thr Asn Ala Tyr	
845 850 855	

25

ttt tat tgg gtg acc cgg gag caa gga tca ttt gat tgg ttc aaa ggt 2764  
 Phe Tyr Trp Val Thr Arg Glu Gln Gly Ser Phe Asp Trp Phe Lys Gly  
 860 865 870  
 gtt atg aat gaa gtg gct gaa ctt gat caa agg ggt gtc atc gag atg 2812  
 Val Met Asn Glu Val Ala Glu Leu Asp Gln Arg Gly Val Ile Glu Met  
 875 880 885  
 cat aac tac ttg acg agt gtt tat gag gaa ggg gat gca cgt tca gct 2860  
 His Asn Tyr Leu Thr Ser Val Tyr Glu Glu Gly Asp Ala Arg Ser Ala  
 890 895 900 905  
 ctc att acc atg gtc cag gca ctt aac cat gct aag aat ggg gtt gat 2908  
 Leu Ile Thr Met Val Gln Ala Leu Asn His Ala Lys Asn Gly Val Asp  
 910 915 920  
 att gta tca ggc acc agt gtg agg aca cat ttc gcc agg ccg aat tgg 2956  
 Ile Val Ser Gly Thr Ser Val Arg Thr His Phe Ala Arg Pro Asn Trp  
 925 930 935  
 gga aaa gta ttt tcc aag acc tta acc aag cat gca aat gca aga ata 3004  
 Lys Val Phe Ser Lys Thr Leu Thr Lys His Ala Asn Ala Arg Ile  
 940 945 950  
 gga gtt ttc tac tgt ggt gca ccc ata tta gct aaa gaa ctc agc caa 3052  
 Gly Val Phe Tyr Cys Gly Ala Pro Ile Leu Ala Lys Glu Leu Ser Gln  
 955 960 965  
 ctc tgc aaa gag ttt aac caa aag ggc aca aca aag ttc gag ttt cac 3100  
 Leu Cys Lys Glu Phe Asn Gln Lys Gly Thr Thr Lys Phe Glu Phe His  
 970 975 980 985  
 aaa gaa cat ttt tagaagggcc tggagtatga ttaatcttgc atcaacggta 3152  
 Lys Glu His Phe  
 cacacatcta tcttcggtac cttatttgat tattctactg aagagataac attagtaagg 3212  
 aataagtcag agataaattg tacataatag ggaagaagac tatttcaaga gaaaatacat 3272  
 accaataaga tgtgaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaactcgt gccg 3316  
 <210> 10  
 <211> 989  
 <212> PRT  
 <213> Lycopersicon esculentum  
 <400> 10  
 Met Arg Gly Leu Pro Gly His Glu Arg Arg Trp Thr Ser Asp Thr Val  
 1 5 10 15  
 Ser Ser Gly Lys Asp Leu Ser Gly Glu Ser Ser Pro Gly Thr Asp Ser  
 20 25 30  
 Gly Asn Ile Ser Gly Phe Ala Ser Glu Glu Phe Val Glu Val Ile Leu  
 35 40 45  
 Asp Leu Gln Asp Asp Asp Thr Ile Ile Leu Arg Ser Val Glu Pro Ala  
 50 55 60  
 Thr Val Ile Asn Ile Asp Gly Ser Asp Pro Ala Ser Gly Val Gly Ile  
 65 70 75 80  
 Gly Gly Ala Ser Ile Glu Thr Pro Ala Ser Val Thr Ser Thr Ser Glu  
 85 90 95  
 Thr Arg Ser Pro Met Met Arg Arg Ser Thr Ser Asn Lys Phe Arg Gln  
 100 105 110  
 Phe Ser Gln Glu Leu Lys Ala Glu Ala Val Ala Lys Ala Lys His Phe  
 115 120 125



27

Ala	Ile	Val	Thr	Gly	Ile	Ile	Leu	His	Ala	Gly	Asn	His	Leu	Val	Cys	515	520	525
Asp	Phe	Pro	Lys	Leu	Ile	His	Ala	Asn	Ser	Thr	Asn	Tyr	Gln	Lys	Tyr	530	535	540
Leu	Val	Asn	Asp	Phe	Gly	Pro	Ser	Gln	Pro	Gln	Tyr	Ile	Asp	Leu	Val	545	550	555
Lys	Gly	Val	Glu	Gly	Val	Thr	Gly	Ile	Val	Met	Val	Ile	Leu	Met	Ala	565	570	575
Ile	Ala	Phe	Thr	Leu	Ala	Thr	Arg	Trp	Phe	Arg	Arg	Ser	Leu	Ile	Lys	580	585	590
Leu	Pro	Lys	Pro	Phe	Asp	Arg	Leu	Thr	Gly	Phe	Asn	Ala	Phe	Trp	Tyr	595	600	605
Ser	His	His	Leu	Leu	Ile	Ile	Val	Tyr	Ile	Val	Leu	Ile	Ile	His	Gly	610	615	620
Thr	Phe	Leu	Tyr	Leu	Val	His	Asn	Trp	Tyr	Ser	Lys	Thr	Thr	Trp	Met	630	635	640
Ile	Ala	Val	Pro	Val	Leu	Leu	Tyr	Ala	Gly	Glu	Arg	Thr	Leu	Arg		645	650	655
Phe	Phe	Arg	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Val	Arg	Leu	Leu	Lys	Val	Ala	Ile	660	665	670
Tyr	Pro	Gly	Asn	Val	Leu	Thr	Leu	Gln	Met	Ser	Lys	Pro	Pro	Gln	Phe	675	680	685
Arg	Tyr	Lys	Ser	Gly	Gln	Tyr	Met	Phe	Val	Gln	Cys	Pro	Ala	Val	Ser	690	695	700
Pro	Phe	Glu	Trp	His	Pro	Phe	Ser	Ile	Thr	Ser	Ala	Pro	Gly	Asp	Asp	705	710	715
Tyr	Leu	Ser	Ile	His	Ile	Arg	Gln	Leu	Gly	Asp	Trp	Thr	Gln	Glu	Leu	725	730	735
Lys	Arg	Val	Phe	Ser	Glu	Ala	Cys	Glu	Gln	Pro	Glu	Ala	Gly	Lys	Ser	740	745	750
Gly	Leu	Leu	Arg	Ala	Asp	Glu	Asn	Thr	Lys	Thr	Ser	Leu	Pro	Lys	Leu	755	760	765
Leu	Ile	Asp	Gly	Pro	Tyr	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	Asp	Tyr	Arg	Lys	Tyr	770	775	780
Asp	Val	Leu	Leu	Leu	Val	Gly	Leu	Gly	Ile	Gly	Ala	Thr	Pro	Phe	Ile	785	790	795
Ser	Ile	Leu	Lys	Asp	Leu	Leu	Lys	Asn	Ile	Val	Ala	Met	Glu	Glu	Gln	805	810	815
Ala	Asp	Leu	Val	Ser	Asp	Phe	Ser	Gly	Asn	Ser	Asp	Met	Ser	Ala	Ala	820	825	830
Thr	Ser	Glu	Gln	Pro	Ala	Leu	Asn	Lys	Ile	Ser	Pro	Lys	Lys	Arg	Lys	835	840	845
Ser	Thr	Leu	Lys	Thr	Thr	Asn	Ala	Tyr	Phe	Tyr	Trp	Val	Thr	Arg	Glu	850	855	860
Gln	Gly	Ser	Phe	Asp	Trp	Phe	Lys	Gly	Val	Met	Asn	Glu	Val	Ala	Glu	865	870	875
Leu	Asp	Gln	Arg	Gly	Val	Ile	Glu	Met	His	Asn	Tyr	Leu	Thr	Ser	Val	885	890	895

28

Tyr Glu Glu Gly Asp Ala Arg Ser Ala Leu Ile Thr Met Val Gln Ala  
 900 905 910  
 Leu Asn His Ala Lys Asn Gly Val Asp Ile Val Ser Gly Thr Ser Val  
 915 920 925  
 Arg Thr His Phe Ala Arg Pro Asn Trp Arg Lys Val Phe Ser Lys Thr  
 930 935 940  
 Leu Thr Lys His Ala Asn Ala Arg Ile Gly Val Phe Tyr Cys Gly Ala  
 945 950 955 960  
 Pro Ile Leu Ala Lys Glu Leu Ser Gln Leu Cys Lys Glu Phe Asn Gln  
 965 970 975  
 Lys Gly Thr Thr Lys Phe Glu Phe His Lys Glu His Phe  
 980 985

&lt;210&gt; 11

&lt;211&gt; 3080

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Arabidopsis thaliana

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (15)..(2846)

&lt;223&gt; coding for NADPH-oxidase

&lt;400&gt; 11

ccgacttttg atct atg aaa ccg ttc tca aag aac gat cgg cga cgg tgg 50  
 Met Lys Pro Phe Ser Lys Asn Asp Arg Arg Arg Trp  
 1 5 10  
 tca ttt gat tca gtt tcc gcc gga aaa acc gcc gtc gga agt gca tca 98  
 Ser Phe Asp Ser Val Ser Ala Gly Lys Thr Ala Val Gly Ser Ala Ser  
 15 20 25  
 act tca ccg gga act gaa tac tcc att aac ggt gat caa gag ttc gtt 146  
 Thr Ser Pro Gly Thr Glu Tyr Ser Ile Asn Gly Asp Gln Glu Phe Val  
 30 35 40  
 gaa gtc aca atc gat ctt caa gac gat gac aca atc gtt ctt cgt agc 194  
 Glu Val Thr Ile Asp Leu Gln Asp Asp Asp Thr Ile Val Leu Arg Ser  
 45 50 55 60  
 gtc gag cca gca acc gcc att aat gtc atc gga gat atc tcc gac gac 242  
 Val Glu Pro Ala Thr Ala Ile Asn Val Ile Gly Asp Ile Ser Asp Asp  
 65 70 75  
 aac acc gga ata atg act ccg gtt tcg att tcg aga tct ccg acg atg 290  
 Asn Thr Gly Ile Met Thr Pro Val Ser Ile Ser Arg Ser Pro Thr Met  
 80 85 90  
 aaa cga act tca tct aat ccg ttc cga caa ttc tca caa gag ctt aaa 338  
 Lys Arg Thr Ser Ser Asn Arg Phe Arg Gln Phe Ser Gln Glu Leu Lys  
 95 100 105  
 gcc gaa gct gtg gcg aaa gcg aaa cag tta tct cag gag ttg aaa cga 386  
 Ala Glu Ala Val Ala Lys Ala Lys Gln Leu Ser Gln Glu Leu Lys Arg  
 110 115 120  
 ttc tca tgg tct cgt tct ttc tca ggt aac tta acc act act agt acc 434  
 Phe Ser Trp Ser Arg Ser Phe Ser Gly Asn Leu Thr Thr Thr Ser Thr  
 125 130 135 140  
 gcc gct aat caa agc ggc ggt gct ggt ggt ttg gtg aac tcg gct 482  
 Ala Ala Asn Gln Ser Gly Gly Ala Gly Gly Gly Leu Val Asn Ser Ala  
 145 150 155

tta gaa gcg cga gcg ttg cga aag caa cgt gct cag tta gat cgg act	530
Leu Glu Ala Arg Ala Leu Arg Lys Gln Arg Ala Gln Leu Asp Arg Thr	
160 165 170	
cgg tct agt gct caa aga gct ctt cgt ggt ttg aga ttc att agc aat	578
Arg Ser Ser Ala Gln Arg Ala Leu Arg Gly Leu Arg Phe Ile Ser Asn	
175 180 185	
aag caa aag aac gtt gat ggt tgg aac gat gtt caa tca aat ttc gaa	626
Lys Gln Lys Asn Val Asp Gly Trp Asn Asp Val Gln Ser Asn Phe Glu	
190 195 200	
aaa ttc gaa aaa aat ggt tac atc tat cgc tcc gat ttc gct caa tgc	674
Lys Phe Glu Lys Asn Gly Tyr Ile Tyr Arg Ser Asp Phe Ala Gln Cys	
205 210 215 220	
ata gga atg aaa gat tcg aaa gaa ttt gca ttg gaa ctg ttc gat gca	722
Ile Gly Met Lys Asp Ser Lys Glu Phe Ala Leu Glu Leu Phe Asp Ala	
225 230 235	
ttg agt aga aga aga aga tta aaa gta gag aaa atc aat cac gat gag	770
Ser Arg Arg Arg Arg Leu Lys Val Glu Lys Ile Asn His Asp Glu	
240 245 250	
ttt tat gag tat tgg tca caa atc aac gac gag agt ttt gat tct cgt	818
Leu Tyr Glu Tyr Trp Ser Gln Ile Asn Asp Glu Ser Phe Asp Ser Arg	
255 260 265	
ctc cag atc ttc ttc gac ata gtg gac aag aat gaa gat ggg aga att	866
Leu Gln Ile Phe Phe Asp Ile Val Asp Lys Asn Glu Asp Gly Arg Ile	
270 275 280	
aca gaa gag gaa gta aaa gag ata ata atg ttg agt gca tct gca aat	914
Thr Glu Glu Glu Val Lys Glu Ile Ile Met Leu Ser Ala Ser Ala Asn	
285 290 295 300	
aag cta tca aga tta aag gaa caa gca gag gaa tat gca gct ttg att	962
Lys Leu Ser Arg Leu Lys Glu Gln Ala Glu Glu Tyr Ala Ala Leu Ile	
305 310 315	
atg gaa gag tta gat cct gaa aga ctt ggc tac ata gag cta tgg caa	1010
Met Glu Glu Leu Asp Pro Glu Arg Leu Gly Tyr Ile Glu Leu Trp Gln	
320 325 330	
cta gag act ttg ctt cta caa aaa gac aca tac ctc aat tac agt caa	1058
Leu Glu Thr Leu Leu Leu Gln Lys Asp Thr Tyr Leu Asn Tyr Ser Gln	
335 340 345	
gca ttg agc tat acg agc caa gca ttg agc caa aac ctt caa ggg tta	1106
Ala Leu Ser Tyr Thr Ser Gln Ala Leu Ser Gln Asn Leu Gln Gly Leu	
350 355 360	
agg gga aag agt cga ata cat aga atg agt tcg gat ttc gtc tac att	1154
Arg Gly Lys Ser Arg Ile His Arg Met Ser Ser Asp Phe Val Tyr Ile	
365 370 375 380	
atg caa gag aat tgg aaa agg ata tgg gtt tta tcc tta tgg atc atg	1202
Met Gln Glu Asn Trp Lys Arg Ile Trp Val Leu Ser Leu Trp Ile Met	
385 390 395	
atc atg atc gga tta ttc ttg tgg aaa ttc ttc caa tac aag caa aaa	1250
Ile Met Ile Gly Leu Phe Leu Trp Lys Phe Phe Gln Tyr Lys Gln Lys	
400 405 410	
gat gca ttt cat gtg atg gga tat tgt tta ctc aca gcc aaa gga gca	1298
Asp Ala Phe His Val Met Gly Tyr Cys Leu Leu Thr Ala Lys Gly Ala	
415 420 425	

gct gaa aca ctt aaa ttc aac atg gct cta ata ctt ttc cca gtt tgc	1346
Ala Glu Thr Leu Lys Phe Asn Met Ala Leu Ile Leu Phe Pro Val Cys	
430 435 440	
aga aac acc att act tgg ctt aga tcc aca aga ctc tct tac ttc gtt	1394
Arg Asn Thr Ile Thr Trp Leu Arg Ser Thr Arg Leu Ser Tyr Phe Val	
445 450 455 460	
cct ttt gat gat aat atc aac ttc cac aag aca att gct gga gcc att	1442
Pro Phe Asp Asp Asn Ile Asn Phe His Lys Thr Ile Ala Gly Ala Ile	
465 470 475	
gta gta gct gtg atc ctt cat att gga gac cat ctt gct tgt gat ttc	1490
Val Val Ala Val Ile Leu His Ile Gly Asp His Leu Ala Cys Asp Phe	
480 485 490	
cct aga att gtt aga gcc acc gaa tac gat tac aat cgg tat ctg ttt	1538
Pro Arg Ile Val Arg Ala Thr Glu Tyr Asp Tyr Asn Arg Tyr Leu Phe	
495 500 505	
cat tac ttt caa aca aaa cag cca aca tac ttc gac ctc gtt aag gga	1586
Tyr Phe Gln Thr Lys Gln Pro Thr Tyr Phe Asp Leu Val Lys Gly	
510 515 520	
cct gaa gga atc act ggg att tta atg gtc att ttg atg att att tca	1634
Pro Glu Gly Ile Thr Gly Ile Leu Met Val Ile Leu Met Ile Ile Ser	
525 530 535 540	
ttc aca tta gca aca aga tgg ttt agg cgt aac cta gtc aag ctt cct	1682
Phe Thr Leu Ala Thr Arg Trp Phe Arg Arg Asn Leu Val Lys Leu Pro	
545 550 555	
aag cca ttt gat cga cta acc ggt ttt aac gcc ttt tgg tat tcg cat	1730
Lys Pro Phe Asp Arg Leu Thr Gly Phe Asn Ala Phe Trp Tyr Ser His	
560 565 570	
cat ttg ttc gtc att gtt tat atc ttg ctt att ctt cat ggt atc ttc	1778
His Leu Phe Val Ile Val Tyr Ile Leu Leu Ile Leu His Gly Ile Phe	
575 580 585	
ctc tat ttc gcc aag cct tgg tat gtt cgt acg aca tgg atg tat ctt	1826
Leu Tyr Phe Ala Lys Pro Trp Tyr Val Arg Thr Thr Trp Met Tyr Leu	
590 595 600	
gca gta cca gtt tta ctc tat ggt gga gaa aga aca ctt agg tac ttc	1874
Ala Val Pro Val Leu Leu Tyr Gly Gly Glu Arg Thr Leu Arg Tyr Phe	
605 610 615 620	
cgt tct ggt tct tat tcg gtt cga ctg ctt aag gtt gct ata tat cct	1922
Arg Ser Gly Ser Tyr Ser Val Arg Leu Leu Lys Val Ala Ile Tyr Pro	
625 630 635	
ggt aat gtt cta acg cta caa atg tcg aaa cca act caa ttt cgt tac	1970
Gly Asn Val Leu Thr Leu Gln Met Ser Lys Pro Thr Gln Phe Arg Tyr	
640 645 650	
aaa agc gga caa tac atg ttt gtc caa tgt cct gcg gtt tcg cca ttc	2018
Lys Ser Gly Gln Tyr Met Phe Val Gln Cys Pro Ala Val Ser Pro Phe	
655 660 665	
gag tgg cat cca ttc tca att act tcc gca cct gaa gat gat tat atc	2066
Glu Trp His Pro Phe Ser Ile Thr Ser Ala Pro Glu Asp Asp Tyr Ile	
670 675 680	
agc att cac att aga caa ctt ggt gat tgg act caa gaa ctc aaa aga	2114
Ser Ile His Ile Arg Gln Leu Gly Asp Trp Thr Gln Glu Leu Lys Arg	
685 690 695 700	

gta ttc tct gaa gtt tgt gag cca ccg gtt ggc ggt aaa agc gga ctt	2162
Val Phe Ser Glu Val Cys Glu Pro Pro Val Gly Gly Lys Ser Gly Leu	
705 710 715	
ctc aga gcc gac gaa aca aca aag aaa agt ttg cca aag cta ttg ata	2210
Leu Arg Ala Asp Glu Thr Thr Lys Lys Ser Leu Pro Lys Leu Leu Ile	
720 725 730	
gat gga ccg tac ggt gca cca gca caa gat tat agg aaa tat gat gtt	2258
Asp Gly Pro Tyr Gly Ala Pro Ala Gln Asp Tyr Arg Lys Tyr Asp Val	
735 740 745	
ctc tta tta gtt ggt ctt ggc att ggt gca act cca ttt atc agt atc	2306
Leu Leu Leu Val Gly Leu Gly Ile Gly Ala Thr Pro Phe Ile Ser Ile	
750 755 760	
ttg aaa gat ttg ctt aac aac att gtt aaa atg gaa gag cat gcg gat	2354
Leu Lys Asp Leu Leu Asn Asn Ile Val Lys Met Glu Glu His Ala Asp	
765 770 775 780	
tgc atc tgc gat ttc agt aga tca tca gaa tac agc aca gga agc aac	2402
Ile Ser Asp Phe Ser Arg Ser Ser Glu Tyr Ser Thr Gly Ser Asn	
785 790 795	
ggt gac acg cca aga cga aag aga ata cta aaa acc aca aat gct tat	2450
Gly Asp Thr Pro Arg Arg Lys Arg Ile Leu Lys Thr Thr Asn Ala Tyr	
800 805 810	
ttc tac tgg gtc aca aga gaa caa ggc tct ttt gat tgg ttc aaa ggt	2498
Phe Tyr Trp Val Thr Arg Glu Gln Gly Ser Phe Asp Trp Phe Lys Gly	
815 820 825	
gtc atg aac gaa gtt gca gaa ctt gac caa cgg ggt gtg ata gag atg	2546
Val Met Asn Glu Val Ala Glu Leu Asp Gln Arg Gly Val Ile Glu Met	
830 835 840	
cat aac tat tta aca agt gtg tat gaa gaa ggt gat gct cgt tct gct	2594
His Asn Tyr Leu Thr Ser Val Tyr Glu Glu Gly Asp Ala Arg Ser Ala	
845 850 855 860	
ctc att aca atg gtt caa gct ctt aat cat gcc aaa aat ggt gtc gac	2642
Leu Ile Thr Met Val Gln Ala Leu Asn His Ala Lys Asn Gly Val Asp	
865 870 875	
att gtc tct ggc act agg gtc aga aca cac ttt gca aga cct aat tgg	2690
Ile Val Ser Gly Thr Arg Val Arg Thr His Phe Ala Arg Pro Asn Trp	
880 885 890	
aag aag gtt ctc aca aag cta agt tcc aag cat tgc aat gca aga aca	2738
Lys Lys Val Leu Thr Lys Leu Ser Ser Lys His Cys Asn Ala Arg Thr	
895 900 905	
gga gtg ttt tat tgc gga gta ccg gtt tta ggg aag gag ctt agc aaa	2786
Gly Val Phe Tyr Cys Gly Val Pro Val Leu Gly Lys Glu Leu Ser Lys	
910 915 920	
cta tgc aac aca ttc aat caa aaa ggt tca acc aag ttt gaa ttt cac	2834
Leu Cys Asn Thr Phe Asn Gln Lys Gly Ser Thr Lys Phe Glu Phe His	
925 930 935 940	
aag gag cat ttc taaaagacaa gaaggaagaa gccaaaagcc ctctagattc	2886
Lys Glu His Phe	
tttaatatct caaatttagc cacttatagt ataaaggcaa tctcttcact atttaattca	2946
aagtgattaa acgttaacac actgtcaaaa gtgagtgtgt taacgttttag ctccacacgt	3006
tctagggttta tatacaccga ggcatacgtg taaatatacg agacagaaga aattcaaggg	3066

ggtttgatag aagc

&lt;210&gt; 12

&lt;211&gt; 944

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Arabidopsis thaliana

&lt;400&gt; 12

Met	Lys	Pro	Phe	Ser	Lys	Asn	Asp	Arg	Arg	Arg	Trp	Ser	Phe	Asp	Ser
1				5				10						15	

Val	Ser	Ala	Gly	Lys	Thr	Ala	Val	Gly	Ser	Ala	Ser	Thr	Ser	Pro	Gly
			20					25					30		

Thr	Glu	Tyr	Ser	Ile	Asn	Gly	Asp	Gln	Glu	Phe	Val	Glu	Val	Thr	Ile
		35				40						45			

Asp	Leu	Gln	Asp	Asp	Asp	Thr	Ile	Val	Leu	Arg	Ser	Val	Glu	Pro	Ala
	50					55					60				

Thr	Ala	Ile	Asn	Val	Ile	Gly	Asp	Ile	Ser	Asp	Asp	Asn	Thr	Gly	Ile
				70				75						80	

Thr	Pro	Val	Ser	Ile	Ser	Arg	Ser	Pro	Thr	Met	Lys	Arg	Thr	Ser	
			85					90					95		

Ser	Asn	Arg	Phe	Arg	Gln	Phe	Ser	Gln	Glu	Leu	Lys	Ala	Glu	Ala	Val
			100					105					110		

Ala	Lys	Ala	Lys	Gln	Leu	Ser	Gln	Glu	Leu	Lys	Arg	Phe	Ser	Trp	Ser
		115					120					125			

Arg	Ser	Phe	Ser	Gly	Asn	Leu	Thr	Thr	Thr	Ser	Thr	Ala	Ala	Asn	Gln
	130					135					140				

Ser	Gly	Gly	Ala	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Asn	Ser	Ala	Leu	Glu	Ala	Arg
145				150					155						160

Ala	Leu	Arg	Lys	Gln	Arg	Ala	Gln	Leu	Asp	Arg	Thr	Arg	Ser	Ser	Ala
			165						170					175	

Gln	Arg	Ala	Leu	Arg	Gly	Leu	Arg	Phe	Ile	Ser	Asn	Lys	Gln	Lys	Asn
			180					185					190		

Val	Asp	Gly	Trp	Asn	Asp	Val	Gln	Ser	Asn	Phe	Glu	Lys	Phe	Glu	Lys
		195				200						205			

Asn	Gly	Tyr	Ile	Tyr	Arg	Ser	Asp	Phe	Ala	Gln	Cys	Ile	Gly	Met	Lys
210						215					220				

Asp	Ser	Lys	Glu	Phe	Ala	Leu	Glu	Leu	Phe	Asp	Ala	Leu	Ser	Arg	Arg
225				230						235				240	

Arg	Arg	Leu	Lys	Val	Glu	Lys	Ile	Asn	His	Asp	Glu	Leu	Tyr	Glu	Tyr
			245					250						255	

Trp	Ser	Gln	Ile	Asn	Asp	Glu	Ser	Phe	Asp	Ser	Arg	Leu	Gln	Ile	Phe
		260						265					270		

Phe	Asp	Ile	Val	Asp	Lys	Asn	Glu	Asp	Gly	Arg	Ile	Thr	Glu	Glu	Glu
	275						280					285			

Val	Lys	Glu	Ile	Ile	Met	Leu	Ser	Ala	Ser	Ala	Asn	Lys	Leu	Ser	Arg
	290					295					300				

Leu	Lys	Glu	Gln	Ala	Glu	Glu	Tyr	Ala	Ala	Leu	Ile	Met	Glu	Glu	Leu
305				310						315					320

Asp	Pro	Glu	Arg	Leu	Gly	Tyr	Ile	Glu	Leu	Trp	Gln	Leu	Glu	Thr	Leu
				325					330					335	

Leu Leu Gln Lys Asp Thr Tyr Leu Asn Tyr Ser Gln Ala Leu Ser Tyr  
 340 345 350  
 Thr Ser Gln Ala Leu Ser Gln Asn Leu Gln Gly Leu Arg Gly Lys Ser  
 355 360 365  
 Arg Ile His Arg Met Ser Ser Asp Phe Val Tyr Ile Met Gln Glu Asn  
 370 375 380  
 Trp Lys Arg Ile Trp Val Leu Ser Leu Trp Ile Met Ile Met Ile Gly  
 385 390 395 400  
 Leu Phe Leu Trp Lys Phe Phe Gln Tyr Lys Gln Lys Asp Ala Phe His  
 405 410 415  
 Val Met Gly Tyr Cys Leu Leu Thr Ala Lys Gly Ala Ala Glu Thr Leu  
 420 425 430  
 Lys Phe Asn Met Ala Leu Ile Leu Phe Pro Val Cys Arg Asn Thr Ile  
 435 440 445  
 Thr Trp Leu Arg Ser Thr Arg Leu Ser Tyr Phe Val Pro Phe Asp Asp  
 450 455 460  
 Ile Asn Phe His Lys Thr Ile Ala Gly Ala Ile Val Val Ala Val  
 465 470 475 480  
 Ile Leu His Ile Gly Asp His Leu Ala Cys Asp Phe Pro Arg Ile Val  
 485 490 495  
 Arg Ala Thr Glu Tyr Asp Tyr Asn Arg Tyr Leu Phe His Tyr Phe Gln  
 500 505 510  
 Thr Lys Gln Pro Thr Tyr Phe Asp Leu Val Lys Gly Pro Glu Gly Ile  
 515 520 525  
 Thr Gly Ile Leu Met Val Ile Leu Met Ile Ile Ser Phe Thr Leu Ala  
 530 535 540  
 Thr Arg Trp Phe Arg Arg Asn Leu Val Lys Leu Pro Lys Pro Phe Asp  
 545 550 555 560  
 Arg Leu Thr Gly Phe Asn Ala Phe Trp Tyr Ser His His Leu Phe Val  
 565 570 575  
 Ile Val Tyr Ile Leu Leu Ile Leu His Gly Ile Phe Leu Tyr Phe Ala  
 580 585 590  
 Lys Pro Trp Tyr Val Arg Thr Thr Trp Met Tyr Leu Ala Val Pro Val  
 595 600 605  
 Leu Leu Tyr Gly Gly Glu Arg Thr Leu Arg Tyr Phe Arg Ser Gly Ser  
 610 615 620  
 Tyr Ser Val Arg Leu Leu Lys Val Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Val Leu  
 625 630 635 640  
 Thr Leu Gln Met Ser Lys Pro Thr Gln Phe Arg Tyr Lys Ser Gly Gln  
 645 650 655  
 Tyr Met Phe Val Gln Cys Pro Ala Val Ser Pro Phe Glu Trp His Pro  
 660 665 670  
 Phe Ser Ile Thr Ser Ala Pro Glu Asp Asp Tyr Ile Ser Ile His Ile  
 675 680 685  
 Arg Gln Leu Gly Asp Trp Thr Gln Glu Leu Lys Arg Val Phe Ser Glu  
 690 695 700  
 Val Cys Glu Pro Pro Val Gly Gly Lys Ser Gly Leu Leu Arg Ala Asp  
 705 710 715 720

34

Glu	Thr	Thr	Lys	Lys	Ser	Leu	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Asp	Gly	Pro	Tyr	
			725						730					735		
Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	Asp	Tyr	Arg	Lys	Tyr	Asp	Val	Leu	Leu	Leu	Val	
			740					745					750			
Gly	Leu	Gly	Ile	Gly	Ala	Thr	Pro	Phe	Ile	Ser	Ile	Leu	Lys	Asp	Leu	
		755					760					765				
Leu	Asn	Asn	Ile	Val	Lys	Met	Glu	Glu	His	Ala	Asp	Ser	Ile	Ser	Asp	
	770					775					780					
Phe	Ser	Arg	Ser	Ser	Glu	Tyr	Ser	Thr	Gly	Ser	Asn	Gly	Asp	Thr	Pro	
785					790					795					800	
Arg	Arg	Lys	Arg	Ile	Leu	Lys	Thr	Thr	Asn	Ala	Tyr	Phe	Tyr	Trp	Val	
			805						810					815		
Thr	Arg	Glu	Gln	Gly	Ser	Phe	Asp	Trp	Phe	Lys	Gly	Val	Met	Asn	Glu	
			820					825					830			
Val	Ala	Glu	Leu	Asp	Gln	Arg	Gly	Val	Ile	Glu	Met	His	Asn	Tyr	Leu	
			835				840					845				
	Ser	Val	Tyr	Glu	Glu	Gly	Asp	Ala	Arg	Ser	Ala	Leu	Ile	Thr	Met	
	850					855					860					
Val	Gln	Ala	Leu	Asn	His	Ala	Lys	Asn	Gly	Val	Asp	Ile	Val	Ser	Gly	
865				870					875						880	
Thr	Arg	Val	Arg	Thr	His	Phe	Ala	Arg	Pro	Asn	Trp	Lys	Lys	Val	Leu	
			885						890					895		
Thr	Lys	Leu	Ser	Ser	Lys	His	Cys	Asn	Ala	Arg	Thr	Gly	Val	Phe	Tyr	
			900					905					910			
Cys	Gly	Val	Pro	Val	Leu	Gly	Lys	Glu	Leu	Ser	Lys	Leu	Cys	Asn	Thr	
		915					920					925				
Phe	Asn	Gln	Lys	Gly	Ser	Thr	Lys	Phe	Glu	Phe	His	Lys	Glu	His	Phe	
	930					935					940					

&lt;210&gt; 13

&lt;211&gt; 3035

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Arabidopsis thaliana

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (132)..(2894)

&lt;223&gt; coding for NADPH-oxidase

&lt;400&gt; 13

```

tcaaacacct tttgagagcg gttatttttt ctctatcaac taatacagta accttacggg 60
.tggtttatttg tatagatctc tgtggttttc ttggccaact ctagtgagat ctttttcggt 120
tctcgaattc g atg aaa atg aga cga ggc aat tca agt aac gac cat gaa 170
      Met Lys Met Arg Arg Gly Asn Ser Ser Asn Asp His Glu
          1             5             10

ctt ggg att cta cga gga gct aac tcg gac acc aac tcg gac acg gag 218
Leu Gly Ile Leu Arg Gly Ala Asn Ser Asp Thr Asn Ser Asp Thr Glu
      15             20             25

agc atc gct agc gac cgt ggt gcc ttt agc ggt ccg ctt ggc cgg cct 266
Ser Ile Ala Ser Asp Arg Gly Ala Phe Ser Gly Pro Leu Gly Arg Pro
      30             35             40             45

```

## 35

aaa cgt gcg tcc aag aaa aac gca aga ttc gcc gac gat ctt ccc aag	314
Lys Arg Ala Ser Lys Lys Asn Ala Arg Phe Ala Asp Asp Leu Pro Lys	
50 55 60	
aga agc aat agt gtt gct ggc ggc cgt ggt gat gac gat gag tac gtg	362
Arg Ser Asn Ser Val Ala Gly Gly Arg Gly Asp Asp Asp Glu Tyr Val	
65 70 75	
gag atc acg cta gac atc agg gac gac tcg gtg gcc gtc cat agt gtc	410
Glu Ile Thr Leu Asp Ile Arg Asp Asp Ser Val Ala Val His Ser Val	
80 85 90	
caa caa gca gct gga ggt gga ggc cac ctg gag gac ccg gag cta gcc	458
Gln Gln Ala Ala Gly Gly Gly Gly His Leu Glu Asp Pro Glu Leu Ala	
95 100 105	
ctt ctt acg aag aag act ctc gag agc agc ctc aac aac acc acc tcc	506
Leu Leu Thr Lys Lys Thr Leu Glu Ser Ser Leu Asn Asn Thr Thr Ser	
110 115 120 125	
tct ttc ttc cga agc acc tcc tca cgc atc aag aac gcc tcc cgc	554
Ser Phe Phe Arg Ser Thr Ser Ser Arg Ile Lys Asn Ala Ser Arg	
130 135 140	
gag ctc cgc cgc gtg ttc tct aga cgt ccc tcc ccg gcc gtg cgg cgg	602
Glu Leu Arg Arg Val Phe Ser Arg Arg Pro Ser Pro Ala Val Arg Arg	
145 150 155	
ttt gac cgc acg agc tcc gcg gcc atc cac gca ctc aaa ggt ctc aag	650
Phe Asp Arg Thr Ser Ser Ala Ala Ile His Ala Leu Lys Gly Leu Lys	
160 165 170	
ttc att gcc acc aag acg gcc gca tgg ccg gcc gtc gac caa cgt ttc	698
Phe Ile Ala Thr Lys Thr Ala Ala Trp Pro Ala Val Asp Gln Arg Phe	
175 180 185	
gat aaa ctc tcc gct gat tcc aac ggc ctc tta ctc tct gcc aag ttt	746
Asp Lys Leu Ser Ala Asp Ser Asn Gly Leu Leu Leu Ser Ala Lys Phe	
190 195 200 205	
tgg gaa tgc tta gga atg aat aag gaa tct aaa gac ttc gct gac cag	794
Trp Glu Cys Leu Gly Met Asn Lys Glu Ser Lys Asp Phe Ala Asp Gln	
210 215 220	
ctc ttt aga gca tta gct cgc cgg aat aac gtc tcc ggc gat gca atc	842
Leu Phe Arg Ala Leu Ala Arg Arg Asn Asn Val Ser Gly Asp Ala Ile	
225 230 235	
aca aag gaa cag ctt agg ata ttc tgg gaa cag atc tca gac gaa agc	890
Thr Lys Glu Gln Leu Arg Ile Phe Trp Glu Gln Ile Ser Asp Glu Ser	
240 245 250	
ttt gat gcc aaa ctc caa gtc ttt ttt gac atg gtg gac aaa gat gaa	938
Phe Asp Ala Lys Leu Gln Val Phe Phe Asp Met Val Asp Lys Asp Glu	
255 260 265	
gat ggg cga gta aca gaa gaa gag gtg gct gag att att agt ctt agt	986
Asp Gly Arg Val Thr Glu Glu Glu Val Ala Glu Ile Ile Ser Leu Ser	
270 275 280 285	
gct tct gca aac aag ctc tca aat att caa aag caa gcc aaa gaa tat	1034
Ala Ser Ala Asn Lys Leu Ser Asn Ile Gln Lys Gln Ala Lys Glu Tyr	
290 295 300	
gcg gca ctg ata atg gaa gag ttg gac cca gac aat gct ggg ttt att	1082
Ala Ala Leu Ile Met Glu Glu Leu Asp Pro Asp Asn Ala Gly Phe Ile	
305 310 315	

36

atg atc gaa aac ttg gaa atg ttg cta tta caa gca ccg aac cag tgc	1130
Met Ile Glu Asn Leu Glu Met Leu Leu Leu Gln Ala Pro Asn Gln Ser	
320 325 330	
gtg cgg atg gga gac agc agg ata ctt agt cag atg tta agt cag aag	1178
Val Arg Met Gly Asp Ser Arg Ile Leu Ser Gln Met Leu Ser Gln Lys	
335 340 345	
ctt aga ccg gca aaa gag agc aac cct tta ttg aga tgg tgc gag aaa	1226
Leu Arg Pro Ala Lys Glu Ser Asn Pro Leu Leu Arg Trp Ser Glu Lys	
350 355 360 365	
atc aaa tat ttc ata ctt gat aat tgg cag aga tta tgg atc atg atg	1274
Ile Lys Tyr Phe Ile Leu Asp Asn Trp Gln Arg Leu Trp Ile Met Met	
370 375 380	
tta tgg ctt ggc atc tgt ggt ggc ctc ttt act tat aaa ttc att cag	1322
Leu Trp Leu Gly Ile Cys Gly Gly Leu Phe Thr Tyr Lys Phe Ile Gln	
385 390 395	
tac aag aac aaa gct gcc tat ggt gtg atg ggt tat tgt gtt tgt gtc	1370
Lys Asn Lys Ala Ala Tyr Gly Val Met Gly Tyr Cys Val Cys Val	
400 405 410	
gcc aaa gga ggc gcc gag act ctc aaa ttc aac atg gct ctc ata ttg	1418
Ala Lys Gly Gly Ala Glu Thr Leu Lys Phe Asn Met Ala Leu Ile Leu	
415 420 425	
ttg cct gtt tgt cga aac acc atc act tgg ctt agg aac aag acc aag	1466
Leu Pro Val Cys Arg Asn Thr Ile Thr Trp Leu Arg Asn Lys Thr Lys	
430 435 440 445	
ctt ggt act gtc gtt cct ttt gat gat agt ctt aac ttc cac aag gtt	1514
Leu Gly Thr Val Val Pro Phe Asp Asp Ser Leu Asn Phe His Lys Val	
450 455 460	
att gca agc ggg ata gtc gtc ggt gtt ttg ctc cat gcg ggt gcc cat	1562
Ile Ala Ser Gly Ile Val Val Gly Val Leu Leu His Ala Gly Ala His	
465 470 475	
tta acg tgt gat ttt cca cgt tta att gcc gcg gat gag gac acc tat	1610
Leu Thr Cys Asp Phe Pro Arg Leu Ile Ala Ala Asp Glu Asp Thr Tyr	
480 485 490	
gag ccg atg gaa aaa tac ttt ggg gat caa ccg act agc tac tgg tgg	1658
Glu Pro Met Glu Lys Tyr Phe Gly Asp Gln Pro Thr Ser Tyr Trp Trp	
495 500 505	
ttt gtg aaa gga gtg gaa gga tgg act ggc att gtg atg gtt gtg cta	1706
Phe Val Lys Gly Val Glu Gly Trp Thr Gly Ile Val Met Val Val Leu	
510 515 520 525	
atg gct ata gcc ttt aca ctc gct acg cct tgg ttc cga cgt aac aag	1754
Met Ala Ile Ala Phe Thr Leu Ala Thr Pro Trp Phe Arg Arg Asn Lys	
530 535 540	
ctt aac tta cct aac ttc ctc aag aag ctt acc ggt ttc aac gcc ttt	1802
Leu Asn Leu Pro Asn Phe Leu Lys Lys Leu Thr Gly Phe Asn Ala Phe	
545 550 555	
tgg tac acc cac cat ttg ttc atc att gtt tat gct ctt ctc att gtc	1850
Trp Tyr Thr His His Leu Phe Ile Ile Val Tyr Ala Leu Leu Ile Val	
560 565 570	
cat ggt atc aag ctc tac ctc aca aag att tgg tat cag aag acg aca	1898
His Gly Ile Lys Leu Tyr Leu Thr Lys Ile Trp Tyr Gln Lys Thr Thr	
575 580 585	

tgg atg tat ctt gct gta ccc atc ctt cta tat gca tct gag agg ctg	1946
Trp Met Tyr Leu Ala Val Pro Ile Leu Leu Tyr Ala Ser Glu Arg Leu	
590 595 600 605	
ctc cgt gct ttc aga tca agc atc aaa ccg gtt aag atg atc aag gtg	1994
Leu Arg Ala Phe Arg Ser Ser Ile Lys Pro Val Lys Met Ile Lys Val	
610 615 620	
gct gtt tac ccc ggg aac gtg ttg tct cta cac atg acg aag cca caa	2042
Ala Val Tyr Pro Gly Asn Val Leu Ser Leu His Met Thr Lys Pro Gln	
625 630 635	
gga ttc aaa tac aaa agt gga cag ttc atg ttg gtg aac tgc cga gcc	2090
Gly Phe Lys Tyr Lys Ser Gly Gln Phe Met Leu Val Asn Cys Arg Ala	
640 645 650	
gta tct cca ttc gaa tgg cat cct ttc tca atc aca tca gct ccc gga	2138
Val Ser Pro Phe Glu Trp His Pro Phe Ser Ile Thr Ser Ala Pro Gly	
655 660 665	
gac gat tac ctg agc gta cat atc cgc act ctc ggt gac tgg aca cgt	2186
Asp Tyr Leu Ser Val His Ile Arg Thr Leu Gly Asp Trp Thr Arg	
675 680 685	
aag ctc agg acc gtt ttc tcc gag gtt tgc aaa cct cct acc gcc ggt	2234
Lys Leu Arg Thr Val Phe Ser Glu Val Cys Lys Pro Pro Thr Ala Gly	
690 695 700	
aaa agc ggt ctt ctc cga gca gac gga gga gat gga aac ctc ccg ttc	2282
Lys Ser Gly Leu Leu Arg Ala Asp Gly Gly Asp Gly Asn Leu Pro Phe	
705 710 715	
ccg aag gtc ctt atc gac ggt cca tac ggt gct ccc gca caa gac tac	2330
Pro Lys Val Leu Ile Asp Gly Pro Tyr Gly Ala Pro Ala Gln Asp Tyr	
720 725 730	
aag aaa tac gac gtg gta ctc ctc gta ggt ctc ggc att gga gcc acg	2378
Lys Lys Tyr Asp Val Val Leu Leu Val Gly Leu Gly Ile Gly Ala Thr	
735 740 745	
cct atg atc agt atc ctt aag gac atc atc aac aac atg aaa ggt cct	2426
Pro Met Ile Ser Ile Leu Lys Asp Ile Ile Asn Asn Met Lys Gly Pro	
750 755 760 765	
gac cgc gac agc gac att gag aac aat aac agt aac aac aat agt aaa	2474
Asp Arg Asp Ser Asp Ile Glu Asn Asn Asn Ser Asn Asn Asn Ser Lys	
770 775 780	
ggg ttt aag aca agg aaa gct tat ttc tac tgg gtg act agg gaa caa	2522
Gly Phe Lys Thr Arg Lys Ala Tyr Phe Tyr Trp Val Thr Arg Glu Gln	
785 790 795	
gga tca ttc gag tgg ttc aag gga ata atg gac gag att tcg gag tta	2570
Gly Ser Phe Glu Trp Phe Lys Gly Ile Met Asp Glu Ile Ser Glu Leu	
800 805 810	
gac gag gaa gga atc atc gag ctt cac aat tat tgc acg agt gtg tac	2618
Asp Glu Glu Gly Ile Ile Glu Leu His Asn Tyr Cys Thr Ser Val Tyr	
815 820 825	
gag gaa ggt gat gca aga gtg gct ctc att gcc atg ctt cag tcg ttg	2666
Glu Glu Gly Asp Ala Arg Val Ala Leu Ile Ala Met Leu Gln Ser Leu	
830 835 840 845	
caa cac gct aag aac ggt gtg gat gtt gtg tcg ggt aca cgt gtc aag	2714
Gln His Ala Lys Asn Gly Val Asp Val Val Ser Gly Thr Arg Val Lys	
850 855 860	

38

tcc cac ttc gct aaa cct aac tgg aga caa gtc tac aag aag atc gct 2762  
 Ser His Phe Ala Lys Pro Asn Trp Arg Gln Val Tyr Lys Lys Ile Ala  
                   865                                  870                                  875

gtt caa cat ccc ggc aaa aga ata gga gtc ttc tac tgt gga atg cca 2810  
 Val Gln His Pro Gly Lys Arg Ile Gly Val Phe Tyr Cys Gly Met Pro  
                   880                                  885                                  890

gga atg ata aag gaa tta aaa aat cta gct ttg gat ttt tct cga aag 2858  
 Gly Met Ile Lys Glu Leu Lys Asn Leu Ala Leu Asp Phe Ser Arg Lys  
                   895                                  900                                  905

aca act acc aag ttt gac ttc cac aaa gag aac ttc tagattaatt 2904  
 Thr Thr Thr Lys Phe Phe His Lys Glu Asn Phe  
                   910                                  915                                  920

atatacgttg tagaaaaata aaacaagaaa caactataca aataaatatt tatttttaaat 2964

tctttttcatt ttatgtaaaa ttatctgagt tatctttttt tgttaaaaaa aaaaaaaaaa 3024

aaaaaaaaa a 3035

<0> 14

<1> 921

<212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 14

Met Lys Met Arg Arg Gly Asn Ser Ser Asn Asp His Glu Leu Gly Ile  
   1                                  5                                  10                                  15

Leu Arg Gly Ala Asn Ser Asp Thr Asn Ser Asp Thr Glu Ser Ile Ala  
                   20                                  25                                  30

Ser Asp Arg Gly Ala Phe Ser Gly Pro Leu Gly Arg Pro Lys Arg Ala  
                   35                                  40                                  45

Ser Lys Lys Asn Ala Arg Phe Ala Asp Asp Leu Pro Lys Arg Ser Asn  
                   50                                  55                                  60

Ser Val Ala Gly Gly Arg Gly Asp Asp Asp Glu Tyr Val Glu Ile Thr  
                   65                                  70                                  75                                  80

Leu Asp Ile Arg Asp Asp Ser Val Ala Val His Ser Val Gln Gln Ala  
                   85                                  90                                  95

Ala Gly Gly Gly Gly His Leu Glu Asp Pro Glu Leu Ala Leu Leu Thr  
                   100                                  105                                  110

Lys Lys Thr Leu Glu Ser Ser Leu Asn Asn Thr Thr Ser Leu Ser Phe  
                   115                                  120                                  125

Phe Arg Ser Thr Ser Ser Arg Ile Lys Asn Ala Ser Arg Glu Leu Arg  
                   130                                  135                                  140

Arg Val Phe Ser Arg Arg Pro Ser Pro Ala Val Arg Arg Phe Asp Arg  
                   145                                  150                                  155                                  160

Thr Ser Ser Ala Ala Ile His Ala Leu Lys Gly Leu Lys Phe Ile Ala  
                   165                                  170                                  175

Thr Lys Thr Ala Ala Trp Pro Ala Val Asp Gln Arg Phe Asp Lys Leu  
                   180                                  185                                  190

Ser Ala Asp Ser Asn Gly Leu Leu Leu Ser Ala Lys Phe Trp Glu Cys  
                   195                                  200                                  205

Leu Gly Met Asn Lys Glu Ser Lys Asp Phe Ala Asp Gln Leu Phe Arg  
                   210                                  215                                  220

Ala	Leu	Ala	Arg	Arg	Asn	Asn	Val	Ser	Gly	Asp	Ala	Ile	Thr	Lys	Glu	225	230	235	240
Gln	Leu	Arg	Ile	Phe	Trp	Glu	Gln	Ile	Ser	Asp	Glu	Ser	Phe	Asp	Ala	245	250	255	
Lys	Leu	Gln	Val	Phe	Phe	Asp	Met	Val	Asp	Lys	Asp	Glu	Asp	Gly	Arg	260	265	270	
Val	Thr	Glu	Glu	Glu	Val	Ala	Glu	Ile	Ile	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Ala	275	280	285	
Asn	Lys	Leu	Ser	Asn	Ile	Gln	Lys	Gln	Ala	Lys	Glu	Tyr	Ala	Ala	Leu	290	295	300	
Ile	Met	Glu	Glu	Leu	Asp	Pro	Asp	Asn	Ala	Gly	Phe	Ile	Met	Ile	Glu	305	310	315	320
Asn	Leu	Glu	Met	Leu	Leu	Leu	Gln	Ala	Pro	Asn	Gln	Ser	Val	Arg	Met	325	330	335	
Gly	Asp	Ser	Arg	Ile	Leu	Ser	Gln	Met	Leu	Ser	Gln	Lys	Leu	Arg	Pro	340	345	350	
Lys	Glu	Ser	Asn	Pro	Leu	Leu	Arg	Trp	Ser	Glu	Lys	Ile	Lys	Tyr		355	360	365	
Phe	Ile	Leu	Asp	Asn	Trp	Gln	Arg	Leu	Trp	Ile	Met	Met	Leu	Trp	Leu	370	375	380	
Gly	Ile	Cys	Gly	Gly	Leu	Phe	Thr	Tyr	Lys	Phe	Ile	Gln	Tyr	Lys	Asn	385	390	395	400
Lys	Ala	Ala	Tyr	Gly	Val	Met	Gly	Tyr	Cys	Val	Cys	Val	Ala	Lys	Gly	405	410	415	
Gly	Ala	Glu	Thr	Leu	Lys	Phe	Asn	Met	Ala	Leu	Ile	Leu	Leu	Pro	Val	420	425	430	
Cys	Arg	Asn	Thr	Ile	Thr	Trp	Leu	Arg	Asn	Lys	Thr	Lys	Leu	Gly	Thr	435	440	445	
Val	Val	Pro	Phe	Asp	Asp	Ser	Leu	Asn	Phe	His	Lys	Val	Ile	Ala	Ser	450	455	460	
Gly	Ile	Val	Val	Gly	Val	Leu	Leu	His	Ala	Gly	Ala	His	Leu	Thr	Cys	465	470	475	480
Asp	Phe	Pro	Arg	Leu	Ile	Ala	Ala	Asp	Glu	Asp	Thr	Tyr	Glu	Pro	Met	485	490	495	
Glu	Lys	Tyr	Phe	Gly	Asp	Gln	Pro	Thr	Ser	Tyr	Trp	Trp	Phe	Val	Lys	500	505	510	
Gly	Val	Glu	Gly	Trp	Thr	Gly	Ile	Val	Met	Val	Val	Leu	Met	Ala	Ile	515	520	525	
Ala	Phe	Thr	Leu	Ala	Thr	Pro	Trp	Phe	Arg	Arg	Asn	Lys	Leu	Asn	Leu	530	535	540	
Pro	Asn	Phe	Leu	Lys	Lys	Leu	Thr	Gly	Phe	Asn	Ala	Phe	Trp	Tyr	Thr	545	550	555	560
His	His	Leu	Phe	Ile	Ile	Val	Tyr	Ala	Leu	Leu	Ile	Val	His	Gly	Ile	565	570	575	
Lys	Leu	Tyr	Leu	Thr	Lys	Ile	Trp	Tyr	Gln	Lys	Thr	Thr	Trp	Met	Tyr	580	585	590	
Leu	Ala	Val	Pro	Ile	Leu	Leu	Tyr	Ala	Ser	Glu	Arg	Leu	Leu	Arg	Ala	595	600	605	

## 40

Phe Arg Ser Ser Ile Lys Pro Val Lys Met Ile Lys Val Ala Val Tyr  
610 615 620

Pro Gly Asn Val Leu Ser Leu His Met Thr Lys Pro Gln Gly Phe Lys  
625 630 635 640

Tyr Lys Ser Gly Gln Phe Met Leu Val Asn Cys Arg Ala Val Ser Pro  
645 650 655

Phe Glu Trp His Pro Phe Ser Ile Thr Ser Ala Pro Gly Asp Asp Tyr  
660 665 670

Leu Ser Val His Ile Arg Thr Leu Gly Asp Trp Thr Arg Lys Leu Arg  
675 680 685

Thr Val Phe Ser Glu Val Cys Lys Pro Pro Thr Ala Gly Lys Ser Gly  
690 695 700

Leu Leu Arg Ala Asp Gly Gly Asp Gly Asn Leu Pro Phe Pro Lys Val  
705 710 715 720

Leu Ile Asp Gly Pro Tyr Gly Ala Pro Ala Gln Asp Tyr Lys Lys Tyr  
725 730 735

Val Val Leu Leu Val Gly Leu Gly Ile Gly Ala Thr Pro Met Ile  
740 745 750

Ser Ile Leu Lys Asp Ile Ile Asn Asn Met Lys Gly Pro Asp Arg Asp  
755 760 765

Ser Asp Ile Glu Asn Asn Asn Ser Asn Asn Asn Ser Lys Gly Phe Lys  
770 775 780

Thr Arg Lys Ala Tyr Phe Tyr Trp Val Thr Arg Glu Gln Gly Ser Phe  
785 790 795 800

Glu Trp Phe Lys Gly Ile Met Asp Glu Ile Ser Glu Leu Asp Glu Glu  
805 810 815

Gly Ile Ile Glu Leu His Asn Tyr Cys Thr Ser Val Tyr Glu Glu Gly  
820 825 830

Asp Ala Arg Val Ala Leu Ile Ala Met Leu Gln Ser Leu Gln His Ala  
835 840 845

Lys Asn Gly Val Asp Val Val Ser Gly Thr Arg Val Lys Ser His Phe  
850 855 860

Ala Lys Pro Asn Trp Arg Gln Val Tyr Lys Lys Ile Ala Val Gln His  
865 870 875 880

Pro Gly Lys Arg Ile Gly Val Phe Tyr Cys Gly Met Pro Gly Met Ile  
885 890 895

Lys Glu Leu Lys Asn Leu Ala Leu Asp Phe Ser Arg Lys Thr Thr Thr  
900 905 910

Lys Phe Asp Phe His Lys Glu Asn Phe  
915 920

&lt;210&gt; 15

&lt;211&gt; 3338

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Nicotiana tabacum

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (313)..(3129)

&lt;223&gt; coding for NADPH-oxidase

&lt;400&gt; 15

```

ggcacgagaa aatccccaat cttttatttg tttattaaaa ttagtacgcc aagaaagaaa 60
gaaagaaaga cagaaagact cgggtcttctt tcttctcttg gtctgaaact ccaaaataga 120
ataccaatta ttaatctttt gtcattcttt tccttctcgc gttcatatat actggaatat 180
acatcttttt ttcaacctat cttcttttcat tttcaagaat tcggggttcca taaatagtag 240
gttcactact tttatttcaa cctccttaaa gtttattcat tcataattttt tctcaaagaa 300
aaaactatag aa atg caa aat tcg gaa aat cat cat ccg cac cac cag cac 351
      Met Gln Asn Ser Glu Asn His His Pro His His Gln His
            1             5             10

cac cat tcg gac aca gag ata att gga aat gat aga gcg tcg tac agt 399
His His Ser Asp Thr Glu Ile Ile Gly Asn Asp Arg Ala Ser Tyr Ser
      15             20             25

ggg cgg tta agc gga cgg tta aac aaa cga ggc ggc aaa aag agt gcg 447
Gly Pro Leu Ser Gly Pro Leu Asn Lys Arg Gly Gly Lys Lys Ser Ala
      30             35             40             45

ttt aac att cct gaa tct acc gac atc gga acc agt gtc gga acc 495
Phe Asn Ile Pro Glu Ser Thr Asp Ile Gly Thr Ser Val Gly Thr
            50             55             60

ggc ggc aag tcc aat gat gat gcg tac gtt gaa atc act ctc gat gtc 543
Gly Gly Lys Ser Asn Asp Asp Ala Tyr Val Glu Ile Thr Leu Asp Val
            65             70             75

cgc gaa gat tcc gtc gct gtc cac agt gtc aaa act gcc gcc ggt gat 591
Arg Glu Asp Ser Val Ala Val His Ser Val Lys Thr Ala Gly Gly Asp
            80             85             90

gac gtg gaa gat ccc gag ctg gct tta ttg gct aaa ggc tta gag aag 639
Asp Val Glu Asp Pro Glu Leu Ala Leu Leu Ala Lys Gly Leu Glu Lys
            95             100             105

aag tcc act tta gga tct tca ctt gtt cga aat gct tcg tct aga att 687
Lys Ser Thr Leu Gly Ser Ser Leu Val Arg Asn Ala Ser Ser Arg Ile
      110             115             120             125

cgg caa gtg tca caa gag ctc agg cgt ttg gct tcc tta aat aaa cgc 735
Arg Gln Val Ser Gln Glu Leu Arg Arg Leu Ala Ser Leu Asn Lys Arg
            130             135             140

cca att cct act gga agg ttc gac agg aat aaa tca gct gct gct cat 783
Pro Ile Pro Thr Gly Arg Phe Asp Arg Asn Lys Ser Ala Ala Ala His
            145             150             155

gct ctt aaa ggt ctc aag ttt att agt aag acc gac gcc gcc gct ggt 831
Ala Leu Lys Gly Leu Lys Phe Ile Ser Lys Thr Asp Gly Gly Ala Gly
            160             165             170

tgg gcc gcc gtc gag aag cgg ttc gat gag att act gct tct act act 879
Trp Ala Ala Val Glu Lys Arg Phe Asp Glu Ile Thr Ala Ser Thr Thr
            175             180             185

ggg ttg ctt cct cgt gcc aaa ttt gga gaa tgt ata ggt atg aat aag 927
Gly Leu Leu Pro Arg Ala Lys Phe Gly Glu Cys Ile Gly Met Asn Lys
      190             195             200             205

gag tct aag gaa ttt gct gtt gag cta tat gat gcg cta gct cgg agg 975
Glu Ser Lys Glu Phe Ala Val Glu Leu Tyr Asp Ala Leu Ala Arg Arg
            210             215             220

aga aac att aca act gat tcc att aac aaa gca cag ctc aaa gag ttc 1023
Arg Asn Ile Thr Thr Asp Ser Ile Asn Lys Ala Gln Leu Lys Glu Phe
            225             230             235

```

tgg gac caa gtg gct gac caa agt ttt gat tct cgc ctt caa aca ttt	1071
Trp Asp Gln Val Ala Asp Gln Ser Phe Asp Ser Arg Leu Gln Thr Phe	
240 245 250	
ttt gac atg gtt gat aaa gat gct gat ggt aga att aca gaa gaa gaa	1119
Phe Asp Met Val Asp Lys Asp Ala Asp Gly Arg Ile Thr Glu Glu Glu	
255 260 265	
gtc aga gag att ata ggc ctt agc gcg tcg gcc aac agg ctg tca aca	1167
Val Arg Glu Ile Ile Gly Leu Ser Ala Ser Ala Asn Arg Leu Ser Thr	
270 275 280 285	
atc cag aaa caa gct gat gaa tac gca gca atg atc atg gaa gag ttg	1215
Ile Gln Lys Gln Ala Asp Glu Tyr Ala Ala Met Ile Met Glu Glu Leu	
290 295 300	
gat cct aac aac ctc gga tac att atg att gag aac ttg gaa atg ctt	1263
Asp Pro Asn Asn Leu Gly Tyr Ile Met Ile Glu Asn Leu Glu Met Leu	
305 310 315	
taa ctg caa gca cca aat caa tca gtg caa aga gga ggc gaa agt cgg	1311
Leu Gln Ala Pro Asn Gln Ser Val Gln Arg Gly Gly Glu Ser Arg	
320 325 330	
aac ttg agt caa atg cta agt caa aaa cta aag cat aca caa gag aga	1359
Asn Leu Ser Gln Met Leu Ser Gln Lys Leu Lys His Thr Gln Glu Arg	
335 340 345	
aat cca ata gta aga tgg tac aag agt ttc atg tac ttt ttg ctg gat	1407
Asn Pro Ile Val Arg Trp Tyr Lys Ser Phe Met Tyr Phe Leu Leu Asp	
350 355 360 365	
aat tgg caa aga gtt tgg gta ttg tta ctg tgg att gga att atg gct	1455
Asn Trp Gln Arg Val Trp Val Leu Leu Trp Ile Gly Ile Met Ala	
370 375 380	
ggt cta ttt aca tgg aaa tat ata cag tat aaa gaa aaa gct gca tat	1503
Gly Leu Phe Thr Trp Lys Tyr Ile Gln Tyr Lys Glu Lys Ala Ala Tyr	
385 390 395	
aaa gtc atg ggt ccc tgt gtg tgt ttt gcc aaa ggt gct gct gaa aca	1551
Lys Val Met Gly Pro Cys Val Cys Phe Ala Lys Gly Ala Ala Glu Thr	
400 405 410	
ctc aag ctc aac atg gca att att tta ttt ccg gtt tgc aga aac acg	1599
Leu Lys Leu Asn Met Ala Ile Ile Leu Phe Pro Val Cys Arg Asn Thr	
415 420 425	
atc aca tgg ctt cga aat aag acc aga tta ggt gct gct gtt cct ttt	1647
Ile Thr Trp Leu Arg Asn Lys Thr Arg Leu Gly Ala Ala Val Pro Phe	
430 435 440 445	
gat gat aac ctt aat ttt cac aaa gtg ata gca gtg gca att gct ctt	1695
Asp Asp Asn Leu Asn Phe His Lys Val Ile Ala Val Ala Ile Ala Leu	
450 455 460	
ggg gtt gga ata cac gga cta tct cac ttg aca tgt gat ttt cct cgg	1743
Gly Val Gly Ile His Gly Leu Ser His Leu Thr Cys Asp Phe Pro Arg	
465 470 475	
ctt tta aat gct agt gaa gaa gaa tat gaa cca atg aag tac tat ttt	1791
Leu Leu Asn Ala Ser Glu Glu Glu Tyr Glu Pro Met Lys Tyr Tyr Phe	
480 485 490	
gga gat cag cca gaa agc tat tgg tgg ttt ata aaa gga gta gaa ggg	1839
Gly Asp Gln Pro Glu Ser Tyr Trp Trp Phe Ile Lys Gly Val Glu Gly	
495 500 505	

gta act gga att ata atg gtg gtt tta atg gca ata gca ttt act cta	1887
Val Thr Gly Ile Ile Met Val Val Leu Met Ala Ile Ala Phe Thr Leu	
510 515 520 525	
gca acc cca tgg ttt aga agg aat aga gtt agt ttg cca aaa cca ttt	1935
Ala Thr Pro Trp Phe Arg Arg Asn Arg Val Ser Leu Pro Lys Pro Phe	
530 535 540	
cac aaa ctc act gga tnt aat gcc ttt tgg tac tct cac cat ctc ttt	1983
His Lys Leu Thr Gly Xaa Asn Ala Phe Trp Tyr Ser His His Leu Phe	
545 550 555	
gtt atc gtc tac act ctg ttc att gtg cat ggt gaa aag cta tac att	2031
Val Ile Val Tyr Thr Leu Phe Ile Val His Gly Glu Lys Leu Tyr Ile	
560 565 570	
acc aaa gat tgg tac aag aga acc gac atg gat gta ctt tta act atc	2079
Thr Lys Asp Trp Tyr Lys Arg Thr Asp Met Asp Val Leu Leu Thr Ile	
575 580 585	
atc ata ctc tat gct agt gaa agg ttg att agg gca ttc agg tca	2127
Ile Ile Leu Tyr Ala Ser Glu Arg Leu Ile Arg Ala Phe Arg Ser	
595 600 605	
agc att aaa gct gtt aag att ttg aag gtg gca gta tat cca gga aat	2175
Ser Ile Lys Ala Val Lys Ile Leu Lys Val Ala Val Tyr Pro Gly Asn	
610 615 620	
gtg ttg gca ctt cac atg tca aaa cca cag ggc tac aaa tac aaa agt	2223
Val Leu Ala Leu His Met Ser Lys Pro Gln Gly Tyr Lys Tyr Lys Ser	
625 630 635	
ggg caa tac atg ttt gtc aac tgt gct gca gtt tct cca ttt gag tgg	2271
Gly Gln Tyr Met Phe Val Asn Cys Ala Ala Val Ser Pro Phe Glu Trp	
640 645 650	
cat cca ttt tca att act tcg gcc cca gga gat gac tat ctc agt gtc	2319
His Pro Phe Ser Ile Thr Ser Ala Pro Gly Asp Asp Tyr Leu Ser Val	
655 660 665	
cat att cga act ctt ggt gat tgg acc agg caa ctt aaa act gtt ttc	2367
His Ile Arg Thr Leu Gly Asp Trp Thr Arg Gln Leu Lys Thr Val Phe	
670 675 680 685	
tcc gag gtt tgc cag cca cca cct aat gga aaa agt gga ctc ctc aga	2415
Ser Glu Val Cys Gln Pro Pro Pro Asn Gly Lys Ser Gly Leu Leu Arg	
690 695 700	
gct gac tac ttg caa gga gag aat aat cct aat ttc cca agg gtg tta	2463
Ala Asp Tyr Leu Gln Gly Glu Asn Asn Pro Asn Phe Pro Arg Val Leu	
705 710 715	
ata gat gga cca tat gga gca cca gca caa gac tac aag aaa tat gag	2511
Ile Asp Gly Pro Tyr Gly Ala Pro Ala Gln Asp Tyr Lys Lys Tyr Glu	
720 725 730	
gtg gtt ttg ttg gta ggt ctt gga att gga gct aca cca atg atc agt	2559
Val Val Leu Leu Val Gly Leu Gly Ile Gly Ala Thr Pro Met Ile Ser	
735 740 745	
att gtt aaa gac att gtc aac aac atg aag gca atg gac gaa gaa gaa	2607
Ile Val Lys Asp Ile Val Asn Asn Met Lys Ala Met Asp Glu Glu Glu	
750 755 760 765	
aat tcc ttg gaa gat gga cac aat aat aat atg gca cca aat tct agc	2655
Asn Ser Leu Glu Asp Gly His Asn Asn Asn Met Ala Pro Asn Ser Ser	
770 775 780	

44

```

ccc aat att gca aaa aat aag ggt aat aaa tca ggt tca gca agt gga 2703
Pro Asn Ile Ala Lys Asn Lys Gly Asn Lys Ser Gly Ser Ala Ser Gly
      785                      790                      795

gga aat aat ttc aat aca agg aga gca tat ttc tat tgg gtt act aga 2751
Gly Asn Asn Phe Asn Thr Arg Arg Ala Tyr Phe Tyr Trp Val Thr Arg
      800                      805                      810

gaa caa ggt tca ttt gat tgg ttc aaa ggt ata atg aat gaa gct gct 2799
Glu Gln Gly Ser Phe Asp Trp Phe Lys Gly Ile Met Asn Glu Ala Ala
      815                      820                      825

gaa atg gac cat aag gga gta att gaa atg cat aat tat tgt act agt 2847
Glu Met Asp His Lys Gly Val Ile Glu Met His Asn Tyr Cys Thr Ser
      830                      835                      840                      845

gtt tat gaa gaa ggt gat gct cgt tct gct ctt att act atg ctt cag 2895
Val Tyr Glu Glu Gly Asp Ala Arg Ser Ala Leu Ile Thr Met Leu Gln
      850                      855                      860

ctt cac cat gcc aaa aat ggt gtt gac att gtc tct ggc acc aga 2943
Leu His His Ala Lys Asn Gly Val Asp Ile Val Ser Gly Thr Arg
      865                      870                      875

gtt aag tca cat ttt gct aaa cct aat tgg cgt aat gtc tac aaa cgc 2991
Val Lys Ser His Phe Ala Lys Pro Asn Trp Arg Asn Val Tyr Lys Arg
      880                      885                      890

att gct ctc aac cac cct gag gct aaa gtt ggg gtc ttc tat tgt ggg 3039
Ile Ala Leu Asn His Pro Glu Ala Lys Val Gly Val Phe Tyr Cys Gly
      895                      900                      905

gca cca gca ctg acc aaa gaa cta aga caa cac gcc ttg gat ttt tca 3087
Ala Pro Ala Leu Thr Lys Glu Leu Arg Gln His Ala Leu Asp Phe Ser
      910                      915                      920                      925

cac aag aca tct acc aag ttt gat ttc cat aaa gaa aat ttt 3129
His Lys Thr Ser Thr Lys Phe Asp Phe His Lys Glu Asn Phe
      930                      935

tgagcaaaga atagaccatt aagcagagca ttaaaatttc atcaaaacag ctaaggacac 3189
agggtgtttt atagaagtct accaactctc cctattgtgt acagataatg ttgcacttca 3249
agttgatata tagttgtggt tgtgatgcta gtatattaca aaataataag attattttta 3309
ttttagtagtaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3338

```

&lt;210&gt; 16

&lt;211&gt; 939

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Nicotiana tabacum

&lt;400&gt; 16

```

Met Gln Asn Ser Glu Asn His His Pro His His Gln His His His Ser
  1          5          10          15
Asp Thr Glu Ile Ile Gly Asn Asp Arg Ala Ser Tyr Ser Gly Pro Leu
      20          25          30
Ser Gly Pro Leu Asn Lys Arg Gly Gly Lys Lys Ser Ala Arg Phe Asn
      35          40          45
Ile Pro Glu Ser Thr Asp Ile Gly Thr Ser Val Gly Thr Gly Gly Lys
      50          55          60
Ser Asn Asp Asp Ala Tyr Val Glu Ile Thr Leu Asp Val Arg Glu Asp
      65          70          75          80

```

45

Ser Val Ala Val His Ser Val Lys Thr Ala Gly Gly Asp Asp Val Glu  
 85 90 95  
 Asp Pro Glu Leu Ala Leu Leu Ala Lys Gly Leu Glu Lys Lys Ser Thr  
 100 105 110  
 Leu Gly Ser Ser Leu Val Arg Asn Ala Ser Ser Arg Ile Arg Gln Val  
 115 120 125  
 Ser Gln Glu Leu Arg Arg Leu Ala Ser Leu Asn Lys Arg Pro Ile Pro  
 130 135 140  
 Thr Gly Arg Phe Asp Arg Asn Lys Ser Ala Ala Ala His Ala Leu Lys  
 145 150 155 160  
 Gly Leu Lys Phe Ile Ser Lys Thr Asp Gly Gly Ala Gly Trp Ala Ala  
 165 170 175  
 Val Glu Lys Arg Phe Asp Glu Ile Thr Ala Ser Thr Thr Gly Leu Leu  
 180 185 190  
 Arg Ala Lys Phe Gly Glu Cys Ile Gly Met Asn Lys Glu Ser Lys  
 195 200 205  
 Phe Ala Val Glu Leu Tyr Asp Ala Leu Ala Arg Arg Arg Asn Ile  
 210 215 220  
 Thr Thr Asp Ser Ile Asn Lys Ala Gln Leu Lys Glu Phe Trp Asp Gln  
 225 230 235 240  
 Val Ala Asp Gln Ser Phe Asp Ser Arg Leu Gln Thr Phe Phe Asp Met  
 245 250 255  
 Val Asp Lys Asp Ala Asp Gly Arg Ile Thr Glu Glu Glu Val Arg Glu  
 260 265 270  
 Ile Ile Gly Leu Ser Ala Ser Ala Asn Arg Leu Ser Thr Ile Gln Lys  
 275 280 285  
 Gln Ala Asp Glu Tyr Ala Ala Met Ile Met Glu Glu Leu Asp Pro Asn  
 290 295 300  
 Asn Leu Gly Tyr Ile Met Ile Glu Asn Leu Glu Met Leu Leu Leu Gln  
 305 310 315 320  
 a Pro Asn Gln Ser Val Gln Arg Gly Gly Glu Ser Arg Asn Leu Ser  
 325 330 335  
 Gln Met Leu Ser Gln Lys Leu Lys His Thr Gln Glu Arg Asn Pro Ile  
 340 345 350  
 Val Arg Trp Tyr Lys Ser Phe Met Tyr Phe Leu Leu Asp Asn Trp Gln  
 355 360 365  
 Arg Val Trp Val Leu Leu Leu Trp Ile Gly Ile Met Ala Gly Leu Phe  
 370 375 380  
 Thr Trp Lys Tyr Ile Gln Tyr Lys Glu Lys Ala Ala Tyr Lys Val Met  
 385 390 395 400  
 Gly Pro Cys Val Cys Phe Ala Lys Gly Ala Ala Glu Thr Leu Lys Leu  
 405 410 415  
 Asn Met Ala Ile Ile Leu Phe Pro Val Cys Arg Asn Thr Ile Thr Trp  
 420 425 430  
 Leu Arg Asn Lys Thr Arg Leu Gly Ala Ala Val Pro Phe Asp Asp Asn  
 435 440 445  
 Leu Asn Phe His Lys Val Ile Ala Val Ala Ile Ala Leu Gly Val Gly  
 450 455 460

46

Ile	His	Gly	Leu	Ser	His	Leu	Thr	Cys	Asp	Phe	Pro	Arg	Leu	Leu	Asn	
465					470					475					480	
Ala	Ser	Glu	Glu	Glu	Tyr	Glu	Pro	Met	Lys	Tyr	Tyr	Phe	Gly	Asp	Gln	
				485					490					495		
Pro	Glu	Ser	Tyr	Trp	Trp	Phe	Ile	Lys	Gly	Val	Glu	Gly	Val	Thr	Gly	
			500					505					510			
Ile	Ile	Met	Val	Val	Leu	Met	Ala	Ile	Ala	Phe	Thr	Leu	Ala	Thr	Pro	
		515					520					525				
Trp	Phe	Arg	Arg	Asn	Arg	Val	Ser	Leu	Pro	Lys	Pro	Phe	His	Lys	Leu	
	530				535						540					
Thr	Gly	Xaa	Asn	Ala	Phe	Trp	Tyr	Ser	His	His	Leu	Phe	Val	Ile	Val	
545				550					555						560	
Tyr	Thr	Leu	Phe	Ile	Val	His	Gly	Glu	Lys	Leu	Tyr	Ile	Thr	Lys	Asp	
				565					570					575		
Tyr	Lys	Arg	Thr	Asp	Met	Asp	Val	Leu	Leu	Thr	Ile	Pro	Ile	Ile		
		580					585					590				
Leu	Tyr	Ala	Ser	Glu	Arg	Leu	Ile	Arg	Ala	Phe	Arg	Ser	Ser	Ile	Lys	
		595					600					605				
Ala	Val	Lys	Ile	Leu	Lys	Val	Ala	Val	Tyr	Pro	Gly	Asn	Val	Leu	Ala	
		610				615					620					
Leu	His	Met	Ser	Lys	Pro	Gln	Gly	Tyr	Lys	Tyr	Lys	Ser	Gly	Gln	Tyr	
625				630					635						640	
Met	Phe	Val	Asn	Cys	Ala	Ala	Val	Ser	Pro	Phe	Glu	Trp	His	Pro	Phe	
			645						650					655		
Ser	Ile	Thr	Ser	Ala	Pro	Gly	Asp	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	His	Ile	Arg	
			660					665					670			
Thr	Leu	Gly	Asp	Trp	Thr	Arg	Gln	Leu	Lys	Thr	Val	Phe	Ser	Glu	Val	
		675					680					685				
Cys	Gln	Pro	Pro	Pro	Asn	Gly	Lys	Ser	Gly	Leu	Leu	Arg	Ala	Asp	Tyr	
		690				695					700					
Leu	Gln	Gly	Glu	Asn	Asn	Pro	Asn	Phe	Pro	Arg	Val	Leu	Ile	Asp	Gly	
				710						715				720		
Pro	Tyr	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	Asp	Tyr	Lys	Lys	Tyr	Glu	Val	Val	Leu	
				725					730					735		
Leu	Val	Gly	Leu	Gly	Ile	Gly	Ala	Thr	Pro	Met	Ile	Ser	Ile	Val	Lys	
			740					745					750			
Asp	Ile	Val	Asn	Asn	Met	Lys	Ala	Met	Asp	Glu	Glu	Glu	Asn	Ser	Leu	
		755					760					765				
Glu	Asp	Gly	His	Asn	Asn	Asn	Met	Ala	Pro	Asn	Ser	Ser	Pro	Asn	Ile	
		770				775					780					
Ala	Lys	Asn	Lys	Gly	Asn	Lys	Ser	Gly	Ser	Ala	Ser	Gly	Gly	Asn	Asn	
785				790						795					800	
Phe	Asn	Thr	Arg	Arg	Ala	Tyr	Phe	Tyr	Trp	Val	Thr	Arg	Glu	Gln	Gly	
				805					810					815		
Ser	Phe	Asp	Trp	Phe	Lys	Gly	Ile	Met	Asn	Glu	Ala	Ala	Glu	Met	Asp	
			820					825					830			
His	Lys	Gly	Val	Ile	Glu	Met	His	Asn	Tyr	Cys	Thr	Ser	Val	Tyr	Glu	
		835					840						845			

47

Glu Gly Asp Ala Arg Ser Ala Leu Ile Thr Met Leu Gln Ser Leu His  
 850 855 860  
 His Ala Lys Asn Gly Val Asp Ile Val Ser Gly Thr Arg Val Lys Ser  
 865 870 875 880  
 His Phe Ala Lys Pro Asn Trp Arg Asn Val Tyr Lys Arg Ile Ala Leu  
 885 890 895  
 Asn His Pro Glu Ala Lys Val Gly Val Phe Tyr Cys Gly Ala Pro Ala  
 900 905 910  
 Leu Thr Lys Glu Leu Arg Gln His Ala Leu Asp Phe Ser His Lys Thr  
 915 920 925  
 Ser Thr Lys Phe Asp Phe His Lys Glu Asn Phe  
 930 935

&lt;210&gt; 17

&lt;211&gt; 2532

&lt;212&gt; DNA

&gt; Oryza sativa

&lt;213&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(2529)

&lt;223&gt; coding for NADPH-oxidase

&lt;400&gt; 17

atg gcg tcg ccg tac gac cac cag tcg ccg cat gcg cag cac ccg tcg	48
Met Ala Ser Pro Tyr Asp His Gln Ser Pro His Ala Gln His Pro Ser	
1 5 10 15	
ggg ttg ccg agg ccg ccg ggg gcg ggg gcg ggt gcg gcg gcg ggc ggg	96
Gly Leu Pro Arg Pro Pro Gly Ala Gly Ala Gly Ala Ala Ala Gly Gly	
20 25 30	
ttc gcg cgg ggg ctg atg aag cag ccg tcg cgg ctg gcg tcc ggg gtg	144
Phe Ala Arg Gly Leu Met Lys Gln Pro Ser Arg Leu Ala Ser Gly Val	
35 40 45	
agg cag ttc gcg tcg agg gtg tcg atg aag gtg ccg gag ggg gtg ggg	192
Arg Gln Phe Ala Ser Arg Val Ser Met Lys Val Pro Glu Gly Val Gly	
50 55 60	
ggg atg cgg ccc ggt ggc ggg agg atg acg cgg atg cag tcc agc gcg	240
Gly Met Arg Pro Gly Gly Gly Arg Met Thr Arg Met Gln Ser Ser Ala	
65 70 75 80	
cag gtg ggg ctc cgg ggg ctc cgc ttc ctc gac aag acg tcc ggc ggg	288
Gln Val Gly Leu Arg Gly Leu Arg Phe Leu Asp Lys Thr Ser Gly Gly	
85 90 95	
aag gag ggg tgg aag tcc gtc gag cgc cgc ttc gac gag atg aac cgc	336
Lys Glu Gly Trp Lys Ser Val Glu Arg Arg Phe Asp Glu Met Asn Arg	
100 105 110	
aac ggc cgc ctc ccc aag gag agc ttc ggc aag tgc atc ggc atg ggg	384
Asn Gly Arg Leu Pro Lys Glu Ser Phe Gly Lys Cys Ile Gly Met Gly	
115 120 125	
gac tcc aag gag ttc gcc ggc gag ctg ttc gtg gcg ctg gcg cgg cgg	432
Asp Ser Lys Glu Phe Ala Gly Glu Leu Phe Val Ala Leu Ala Arg Arg	
130 135 140	
agg aac ctg gag ccg gag gac ggc atc acc aag gag cag ctc aag gag	480
Arg Asn Leu Glu Pro Glu Asp Gly Ile Thr Lys Glu Gln Leu Lys Glu	
145 150 155 160	

ttc tgg gag gag atg acc gac cag aac ttc gac tcg cgg ctt cgc att	528
Phe Trp Glu Glu Met Thr Asp Gln Asn Phe Asp Ser Arg Leu Arg Ile	
165 170 175	
ttc ttt gac atg tgc gac aag aat ggc gat ggg atg ctc acg gaa gat	576
Phe Phe Asp Met Cys Asp Lys Asn Gly Asp Gly Met Leu Thr Glu Asp	
180 185 190	
gag gtc aag gag gtt att ata ctg agt gcg tcg gcg aac aag ctg gcg	624
Glu Val Lys Glu Val Ile Ile Leu Ser Ala Ser Ala Asn Lys Leu Ala	
195 200 205	
aag ctg aag gga cac gcg gcg acg tac gcg tcg ctg atc atg gag gag	672
Lys Leu Lys Gly His Ala Ala Thr Tyr Ala Ser Leu Ile Met Glu Glu	
210 215 220	
ctg gac ccg gac gac cgc ggg tac atc gag atc tgg cag ctg gag acg	720
Leu Asp Pro Asp Asp Arg Gly Tyr Ile Glu Ile Trp Gln Leu Glu Thr	
225 230 235 240	
ctg cgc ggc atg gtg agc gcg cag gcg gcg ccg gag aag atg aag	768
Leu Arg Gly Met Val Ser Ala Gln Ala Ala Pro Glu Lys Met Lys	
245 250 255	
cgg acg acg tcg agc ctc gcg agg acg atg atc ccg tcg cgg tac cgg	816
Arg Thr Thr Ser Ser Leu Ala Arg Thr Met Ile Pro Ser Arg Tyr Arg	
260 265 270	
agc ccg ctg aag cgg cac gtg tcc agg acg gtg gac ttc gtg cac gag	864
Ser Pro Leu Lys Arg His Val Ser Arg Thr Val Asp Phe Val His Glu	
275 280 285	
aac tgg aag cgg atc tgg ctc gtc gcg ctg tgg ctc gcc gtc aac gtc	912
Asn Trp Lys Arg Ile Trp Leu Val Ala Leu Trp Leu Ala Val Asn Val	
290 295 300	
ggc ctc ttc gcc tac aag ttc gag cag tac gag cgg cgc gcc gcg ttc	960
Gly Leu Phe Ala Tyr Lys Phe Glu Gln Tyr Glu Arg Arg Ala Ala Phe	
305 310 315 320	
cag gtg atg ggc cac tgc gtg tgc gtg gcc aag ggc gcc gcc gag gtg	1008
Gln Val Met Gly His Cys Val Cys Val Ala Lys Gly Ala Ala Glu Val	
325 330 335	
ctc aag ctc aac atg gcg ctc atc ctc ctc ccc gtg tgc cgg aac acg	1056
Leu Lys Leu Asn Met Ala Leu Ile Leu Leu Pro Val Cys Arg Asn Thr	
340 345 350	
ctc acc acg ctc agg tcc acg gcg ctc agc cac gtc atc ccc ttc gac	1104
Leu Thr Thr Leu Arg Ser Thr Ala Leu Ser His Val Ile Pro Phe Asp	
355 360 365	
gac aac atc aac ttc cac aag gtg atc gcg gcg acc atc gcc gcc gcc	1152
Asp Asn Ile Asn Phe His Lys Val Ile Ala Ala Thr Ile Ala Ala Ala	
370 375 380	
acc gcc gtc cac acg ctg gcg cac gtc acc tgc gac ttc ccg agg ctg	1200
Thr Ala Val His Thr Leu Ala His Val Thr Cys Asp Phe Pro Arg Leu	
385 390 395 400	
atc aac tgc ccc agc gac aag ttc atg gcg acg ctg ggg ccg aac ttc	1248
Ile Asn Cys Pro Ser Asp Lys Phe Met Ala Thr Leu Gly Pro Asn Phe	
405 410 415	
ggg tac agg cag ccg acg tac gcc gac ctg ctg gag agc gcc ccc ggc	1296
Gly Tyr Arg Gln Pro Thr Tyr Ala Asp Leu Leu Glu Ser Ala Pro Gly	
420 425 430	

gtc acc ggc atc ctc atg atc atc atc atg tcc ttc tcc ttc acg ctg	1344
Val Thr Gly Ile Leu Met Ile Ile Ile Met Ser Phe Ser Phe Thr Leu	
435 440 445	
gcc acg cac tcc ttc cgc cgg agc gtc gtc aag ctg ccg tgc ccg ctg	1392
Ala Thr His Ser Phe Arg Arg Ser Val Val Lys Leu Pro Ser Pro Leu	
450 455 460	
cac cac ctc gcc ggc ttc aac gcc ttc tgg tac gcg cac cac ctc ctg	1440
His His Leu Ala Gly Phe Asn Ala Phe Trp Tyr Ala His His Leu Leu	
465 470 475 480	
gtg ctc gcc tac gtc ctc ctc gtc gtg cac tcc tac ttc ata ttc ctc	1488
Val Leu Ala Tyr Val Leu Leu Val Val His Ser Tyr Phe Ile Phe Leu	
485 490 495	
acc agg gag tgg tac aag aaa acg aca tgg atg tac ctg ata gtc cca	1536
Thr Arg Glu Trp Tyr Lys Lys Thr Thr Trp Met Tyr Leu Ile Val Pro	
500 505 510	
gtg ctc ttc tat gca tgc gag aga acg atc aga aaa gtt cga gag aac	1584
Leu Phe Tyr Ala Cys Glu Arg Thr Ile Arg Lys Val Arg Glu Asn	
515 520 525	
aac tac cgc gtg agc atc gtc aag gca gcg att tac cca gga aat gtg	1632
Asn Tyr Arg Val Ser Ile Val Lys Ala Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Val	
530 535 540	
ctc tct ctt cac atg aag aag ccg ccg ggt ttc aag tac aag agc ggg	1680
Leu Ser Leu His Met Lys Lys Pro Pro Gly Phe Lys Tyr Lys Ser Gly	
545 550 555 560	
atg tac ctg ttt gtg aag tgc cct gat gtc tct cct ttc gaa tgg cat	1728
Met Tyr Leu Phe Val Lys Cys Pro Asp Val Ser Pro Phe Glu Trp His	
565 570 575	
ccc ttc tcc atc act tct gca cct gga gat gac tac ctg agt gtg cat	1776
Pro Phe Ser Ile Thr Ser Ala Pro Gly Asp Asp Tyr Leu Ser Val His	
580 585 590	
atc cgt aca cta ggt gac tgg acg act gaa ctc aga aac ctg ttt ggg	1824
Ile Arg Thr Leu Gly Asp Trp Thr Thr Glu Leu Arg Asn Leu Phe Gly	
595 600 605	
aag gct tgc gag gca cag gtt act tct aag aag gct acc ctt tca aga	1872
Lys Ala Cys Glu Ala Gln Val Thr Ser Lys Lys Ala Thr Leu Ser Arg	
610 615 620	
ctt gaa act aca gtt gtg gcg gac gct cag aca gag gat act agg ttt	1920
Leu Glu Thr Thr Val Val Ala Asp Ala Gln Thr Glu Asp Thr Arg Phe	
625 630 635 640	
cct aag gtc ctt att gat ggg ccc tat ggt gca ccg gcg caa aac tac	1968
Pro Lys Val Leu Ile Asp Gly Pro Tyr Gly Ala Pro Ala Gln Asn Tyr	
645 650 655	
aag aag tat gac att ctt ttg ctt att ggt ctt gga att ggt gct act	2016
Lys Lys Tyr Asp Ile Leu Leu Leu Ile Gly Leu Gly Ile Gly Ala Thr	
660 665 670	
cct ttc atc agc att ctg aag gat ctg ttg aac aac att aaa tcc aac	2064
Pro Phe Ile Ser Ile Leu Lys Asp Leu Leu Asn Asn Ile Lys Ser Asn	
675 680 685	
gaa gag gtg gaa agc ata cat ggt tct gag ata ggc agc ttc aag aac	2112
Glu Glu Val Glu Ser Ile His Gly Ser Glu Ile Gly Ser Phe Lys Asn	
690 695 700	

50

aat ggg cca gga aga gct tac ttc tac tgg gtg acc aga gag caa ggg 2160  
 Asn Gly Pro Gly Arg Ala Tyr Phe Tyr Trp Val Thr Arg Glu Gln Gly  
 705 710 715 720  
 tcc ttc gag tgg ttt aaa gga gtc atg aac gat gtc gct gaa agt gat 2208  
 Ser Phe Glu Trp Phe Lys Gly Val Met Asn Asp Val Ala Glu Ser Asp  
 725 730 735  
 cac aat aat att ata gag atg cac aat tac ctg acc agc gtg tat gaa 2256  
 His Asn Asn Ile Ile Glu Met His Asn Tyr Leu Thr Ser Val Tyr Glu  
 740 745 750  
 gaa ggc gac gca agg tca gct ttg att gcc atg gtt cag tca ctt caa 2304  
 Glu Gly Asp Ala Arg Ser Ala Leu Ile Ala Met Val Gln Ser Leu Gln  
 755 760 765  
 cat gcc aaa aat ggt gtg gat atc gtc tcc ggc agc agg att cgc aca 2352  
 His Ala Lys Asn Gly Val Asp Ile Val Ser Gly Ser Arg Ile Arg Thr  
 770 775 780  
 cat ttt gcg agg cct aac tgg aga aag gtg ttc tct gac ttg gcg aat 2400  
 Phe Ala Arg Pro Asn Trp Arg Lys Val Phe Ser Asp Leu Ala Asn  
 790 795 800  
 gcc cac aaa aac tca cgc ata ggt gtt ttc tat tgt gga tcc cct aca 2448  
 Ala His Lys Asn Ser Arg Ile Gly Val Phe Tyr Cys Gly Ser Pro Thr  
 805 810 815  
 ctc acg aaa caa ctc aag gat ctt tca aaa gaa ttc agc cag aca acc 2496  
 Leu Thr Lys Gln Leu Lys Asp Leu Ser Lys Glu Phe Ser Gln Thr Thr  
 820 825 830  
 aca act aga ttc cac ttc cac aag gaa aac ttt taa 2532  
 Thr Thr Arg Phe His Phe His Lys Glu Asn Phe  
 835 840  
 <210> 18  
 <211> 843  
 <212> PRT  
 <213> Oryza sativa  
 <400> 18  
 Met Ala Ser Pro Tyr Asp His Gln Ser Pro His Ala Gln His Pro Ser  
 1 5 10 15  
 Gly Leu Pro Arg Pro Pro Gly Ala Gly Ala Gly Ala Ala Ala Gly Gly  
 20 25 30  
 Phe Ala Arg Gly Leu Met Lys Gln Pro Ser Arg Leu Ala Ser Gly Val  
 35 40 45  
 Arg Gln Phe Ala Ser Arg Val Ser Met Lys Val Pro Glu Gly Val Gly  
 50 55 60  
 Gly Met Arg Pro Gly Gly Gly Arg Met Thr Arg Met Gln Ser Ser Ala  
 65 70 75 80  
 Gln Val Gly Leu Arg Gly Leu Arg Phe Leu Asp Lys Thr Ser Gly Gly  
 85 90 95  
 Lys Glu Gly Trp Lys Ser Val Glu Arg Arg Phe Asp Glu Met Asn Arg  
 100 105 110  
 Asn Gly Arg Leu Pro Lys Glu Ser Phe Gly Lys Cys Ile Gly Met Gly  
 115 120 125  
 Asp Ser Lys Glu Phe Ala Gly Glu Leu Phe Val Ala Leu Ala Arg Arg  
 130 135 140

## 51

Arg	Asn	Leu	Glu	Pro	Glu	Asp	Gly	Ile	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu	Lys	Glu
145					150					155					160
Phe	Trp	Glu	Glu	Met	Thr	Asp	Gln	Asn	Phe	Asp	Ser	Arg	Leu	Arg	Ile
				165					170					175	
Phe	Phe	Asp	Met	Cys	Asp	Lys	Asn	Gly	Asp	Gly	Met	Leu	Thr	Glu	Asp
			180					185					190		
Glu	Val	Lys	Glu	Val	Ile	Ile	Leu	Ser	Ala	Ser	Ala	Asn	Lys	Leu	Ala
		195					200					205			
Lys	Leu	Lys	Gly	His	Ala	Ala	Thr	Tyr	Ala	Ser	Leu	Ile	Met	Glu	Glu
	210					215					220				
Leu	Asp	Pro	Asp	Asp	Arg	Gly	Tyr	Ile	Glu	Ile	Trp	Gln	Leu	Glu	Thr
225					230					235					240
Leu	Leu	Arg	Gly	Met	Val	Ser	Ala	Gln	Ala	Ala	Pro	Glu	Lys	Met	Lys
				245					250					255	
Arg	Thr	Thr	Ser	Ser	Leu	Ala	Arg	Thr	Met	Ile	Pro	Ser	Arg	Tyr	Arg
			260					265					270		
Pro	Leu	Lys	Arg	His	Val	Ser	Arg	Thr	Val	Asp	Phe	Val	His	Glu	
	275						280				285				
Asn	Trp	Lys	Arg	Ile	Trp	Leu	Val	Ala	Leu	Trp	Leu	Ala	Val	Asn	Val
	290					295					300				
Gly	Leu	Phe	Ala	Tyr	Lys	Phe	Glu	Gln	Tyr	Glu	Arg	Arg	Ala	Ala	Phe
305					310					315					320
Gln	Val	Met	Gly	His	Cys	Val	Cys	Val	Ala	Lys	Gly	Ala	Ala	Glu	Val
				325					330					335	
Leu	Lys	Leu	Asn	Met	Ala	Leu	Ile	Leu	Leu	Pro	Val	Cys	Arg	Asn	Thr
			340					345					350		
Leu	Thr	Thr	Leu	Arg	Ser	Thr	Ala	Leu	Ser	His	Val	Ile	Pro	Phe	Asp
		355					360					365			
Asp	Asn	Ile	Asn	Phe	His	Lys	Val	Ile	Ala	Ala	Thr	Ile	Ala	Ala	Ala
	370					375					380				
Thr	Ala	Val	His	Thr	Leu	Ala	His	Val	Thr	Cys	Asp	Phe	Pro	Arg	Leu
385					390					395					400
Ile	Asn	Cys	Pro	Ser	Asp	Lys	Phe	Met	Ala	Thr	Leu	Gly	Pro	Asn	Phe
				405					410					415	
Gly	Tyr	Arg	Gln	Pro	Thr	Tyr	Ala	Asp	Leu	Leu	Glu	Ser	Ala	Pro	Gly
			420					425					430		
Val	Thr	Gly	Ile	Leu	Met	Ile	Ile	Ile	Met	Ser	Phe	Ser	Phe	Thr	Leu
		435					440					445			
Ala	Thr	His	Ser	Phe	Arg	Arg	Ser	Val	Val	Lys	Leu	Pro	Ser	Pro	Leu
						455					460				
His	His	Leu	Ala	Gly	Phe	Asn	Ala	Phe	Trp	Tyr	Ala	His	His	Leu	Leu
465					470					475					480
Val	Leu	Ala	Tyr	Val	Leu	Leu	Val	Val	His	Ser	Tyr	Phe	Ile	Phe	Leu
				485					490					495	
Thr	Arg	Glu	Trp	Tyr	Lys	Lys	Thr	Thr	Trp	Met	Tyr	Leu	Ile	Val	Pro
			500					505					510		
Val	Leu	Phe	Tyr	Ala	Cys	Glu	Arg	Thr	Ile	Arg	Lys	Val	Arg	Glu	Asn
		515					520					525			

## 52

Asn	Tyr	Arg	Val	Ser	Ile	Val	Lys	Ala	Ala	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Val
530						535					540				
Leu	Ser	Leu	His	Met	Lys	Lys	Pro	Pro	Gly	Phe	Lys	Tyr	Lys	Ser	Gly
545					550					555					560
Met	Tyr	Leu	Phe	Val	Lys	Cys	Pro	Asp	Val	Ser	Pro	Phe	Glu	Trp	His
				565					570					575	
Pro	Phe	Ser	Ile	Thr	Ser	Ala	Pro	Gly	Asp	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	His
			580						585					590	
Ile	Arg	Thr	Leu	Gly	Asp	Trp	Thr	Thr	Glu	Leu	Arg	Asn	Leu	Phe	Gly
		595					600						605		
Lys	Ala	Cys	Glu	Ala	Gln	Val	Thr	Ser	Lys	Lys	Ala	Thr	Leu	Ser	Arg
	610					615					620				
Leu	Glu	Thr	Thr	Val	Val	Ala	Asp	Ala	Gln	Thr	Glu	Asp	Thr	Arg	Phe
625					630					635					640
Pro	Lys	Val	Leu	Ile	Asp	Gly	Pro	Tyr	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	Asn	Tyr
				645					650						655
	Lys	Tyr	Asp	Ile	Leu	Leu	Leu	Ile	Gly	Leu	Gly	Ile	Gly	Ala	Thr
			660					665					670		
Pro	Phe	Ile	Ser	Ile	Leu	Lys	Asp	Leu	Leu	Asn	Asn	Ile	Lys	Ser	Asn
			675				680					685			
Glu	Glu	Val	Glu	Ser	Ile	His	Gly	Ser	Glu	Ile	Gly	Ser	Phe	Lys	Asn
		690				695					700				
Asn	Gly	Pro	Gly	Arg	Ala	Tyr	Phe	Tyr	Trp	Val	Thr	Arg	Glu	Gln	Gly
705					710					715					720
Ser	Phe	Glu	Trp	Phe	Lys	Gly	Val	Met	Asn	Asp	Val	Ala	Glu	Ser	Asp
				725					730					735	
His	Asn	Asn	Ile	Ile	Glu	Met	His	Asn	Tyr	Leu	Thr	Ser	Val	Tyr	Glu
			740					745					750		
Glu	Gly	Asp	Ala	Arg	Ser	Ala	Leu	Ile	Ala	Met	Val	Gln	Ser	Leu	Gln
		755					760					765			
His	Ala	Lys	Asn	Gly	Val	Asp	Ile	Val	Ser	Gly	Ser	Arg	Ile	Arg	Thr
	770					775					780				
His	Phe	Ala	Arg	Pro	Asn	Trp	Arg	Lys	Val	Phe	Ser	Asp	Leu	Ala	Asn
785					790					795					800
Ala	His	Lys	Asn	Ser	Arg	Ile	Gly	Val	Phe	Tyr	Cys	Gly	Ser	Pro	Thr
				805					810					815	
Leu	Thr	Lys	Gln	Leu	Lys	Asp	Leu	Ser	Lys	Glu	Phe	Ser	Gln	Thr	Thr
			820					825					830		
Thr	Thr	Arg	Phe	His	Phe	His	Lys	Glu	Asn	Phe					
		835					840								

&lt;210&gt; 19

&lt;211&gt; 2604

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Arabidopsis thaliana

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(2601)

&lt;223&gt; coding for NADPH-oxidase

&lt;400&gt; 19

atg tct aga gtg agt ttt gaa gtg tca gga ggc tat cac tct gat gca	48
Met Ser Arg Val Ser Phe Glu Val Ser Gly Gly Tyr His Ser Asp Ala	
1 5 10 15	
gaa gcc gga aac agc gga cca atg agc ggt ggt caa tta cca ccg atc	96
Glu Ala Gly Asn Ser Gly Pro Met Ser Gly Gly Gln Leu Pro Pro Ile	
20 25 30	
tat aaa aaa ccg ggg aac tcc aga ttc act gct gag aac agt cag aga	144
Tyr Lys Lys Pro Gly Asn Ser Arg Phe Thr Ala Glu Asn Ser Gln Arg	
35 40 45	
aca cgt acg gca cca tac gtg gac ctc acg gta gat gta caa gac gat	192
Thr Arg Thr Ala Pro Tyr Val Asp Leu Thr Val Asp Val Gln Asp Asp	
50 55 60	
aca gtc tct gta cat agc ttg aaa atg gaa ggt gga tct agc gtt gaa	240
Thr Val Ser Val His Ser Leu Lys Met Glu Gly Gly Ser Ser Val Glu	
65 70 75 80	
gag agt ccg gag ctt act ttg ctg aaa cga aac cgt ctt gag aag aaa	288
Glu Ser Pro Glu Leu Thr Leu Leu Lys Arg Asn Arg Leu Glu Lys Lys	
85 90 95	
aca acg gtg gtg aaa cgt ttg gcg tct gtt tct cac gag ctt aag cgt	336
Thr Thr Val Val Lys Arg Leu Ala Ser Val Ser His Glu Leu Lys Arg	
100 105 110	
ttg aca tct gtt tct ggt ggt att ggt gga aga aag ccg cct cga ccg	384
Leu Thr Ser Val Ser Gly Gly Ile Gly Gly Arg Lys Pro Pro Arg Pro	
115 120 125	
gct aag tta gac cgg act aaa tcc gcc gcg agt caa gcg ttg aag gga	432
Ala Lys Leu Asp Arg Thr Lys Ser Ala Ala Ser Gln Ala Leu Lys Gly	
130 135 140	
ctt aag ttc att agt aaa acc gac ggt ggc gcc ggt tgg tct gcc gtg	480
Leu Lys Phe Ile Ser Lys Thr Asp Gly Gly Ala Gly Trp Ser Ala Val	
145 150 155 160	
gag aag cgg ttt aat cag att acc gcg act acc ggt gga cta ctt ctt	528
Glu Lys Arg Phe Asn Gln Ile Thr Ala Thr Thr Gly Gly Leu Leu Leu	
165 170 175	
cgg aca aag ttc ggt gaa tgc ata gga atg act tca aag gat ttt gct	576
Arg Thr Lys Phe Gly Glu Cys Ile Gly Met Thr Ser Lys Asp Phe Ala	
180 185 190	
ttg gaa ctg ttt gat gca ttg gct aga aga agg aat ata aca ggg gaa	624
Leu Glu Leu Phe Asp Ala Leu Ala Arg Arg Arg Asn Ile Thr Gly Glu	
195 200 205	
gtg att gat gga gat caa cta aag gag ttt tgg gaa caa att aat gat	672
Val Ile Asp Gly Asp Gln Leu Lys Glu Phe Trp Glu Gln Ile Asn Asp	
210 215 220	
caa agt ttt gat tct cgg ctt aag aca ttc ttt gac atg gtg gat aaa	720
Gln Ser Phe Asp Ser Arg Leu Lys Thr Phe Phe Asp Met Val Asp Lys	
225 230 235 240	
gat gct gat ggt aga ctt aca gaa gac gaa gtt aga gag ttg gag agt	768
Asp Ala Asp Gly Arg Leu Thr Glu Asp Glu Val Arg Glu Leu Glu Ser	
245 250 255	
ctt gag act ctg ctt ttg caa gcg gca aca cag tct gtg ata aca agt	816
Leu Glu Thr Leu Leu Leu Gln Ala Ala Thr Gln Ser Val Ile Thr Ser	
260 265 270	

act	ggg	gag	aga	aag	aat	ctg	agt	cat	atg	atg	agt	cag	agg	ctt	aag	864
Thr	Gly	Glu	Arg	Lys	Asn	Leu	Ser	His	Met	Met	Ser	Gln	Arg	Leu	Lys	
	275						280					285				
cct	acg	ttt	aac	cgc	aac	ccg	ttg	aag	cga	tgg	tac	cgt	ggt	ctt	aga	912
Pro	Thr	Phe	Asn	Arg	Asn	Pro	Leu	Lys	Arg	Trp	Tyr	Arg	Gly	Leu	Arg	
	290					295					300					
ttc	ttc	ttg	tta	gac	aac	tgg	caa	aga	tgt	tgg	gtt	ata	gtg	cta	tgg	960
Phe	Phe	Leu	Leu	Asp	Asn	Trp	Gln	Arg	Cys	Trp	Val	Ile	Val	Leu	Trp	
305					310					315					320	
ttc	ata	gtt	atg	gct	ata	ctc	ttc	acc	tac	aaa	tat	atc	caa	tac	agg	1008
Phe	Ile	Val	Met	Ala	Ile	Leu	Phe	Thr	Tyr	Lys	Tyr	Ile	Gln	Tyr	Arg	
				325					330						335	
cgt	agc	cct	gtg	tat	cca	gtg	atg	ggt	gat	tgt	gtg	tgc	atg	gct	aaa	1056
Arg	Ser	Pro	Val	Tyr	Pro	Val	Met	Gly	Asp	Cys	Val	Cys	Met	Ala	Lys	
			340						345					350		
ggt	gct	gca	gaa	aca	gtg	aag	ctg	aac	atg	gct	ttg	att	ctc	tta	cct	1104
Gly	Ala	Ala	Glu	Thr	Val	Lys	Leu	Asn	Met	Ala	Leu	Ile	Leu	Leu	Pro	
	355						360					365				
gtt	tgt	aga	aac	acc	atc	aca	tgg	ctt	aga	aat	aag	acc	agg	ttg	ggt	1152
Val	Cys	Arg	Asn	Thr	Ile	Thr	Trp	Leu	Arg	Asn	Lys	Thr	Arg	Leu	Gly	
	370					375					380					
cgt	gtt	gtc	cca	ttt	gat	gac	aat	ctc	aac	ttc	cac	aag	gtt	ata	gcg	1200
Arg	Val	Val	Pro	Phe	Asp	Asp	Asn	Leu	Asn	Phe	His	Lys	Val	Ile	Ala	
385					390					395					400	
gtg	ggg	att	ata	gtt	gga	gta	acg	atg	cac	gcc	ggg	gca	cat	tta	gcg	1248
Val	Gly	Ile	Ile	Val	Gly	Val	Thr	Met	His	Ala	Gly	Ala	His	Leu	Ala	
				405					410					415		
tgt	gat	ttc	ccg	cgg	tta	cta	cat	gca	act	cca	gag	gca	tat	agg	cct	1296
Cys	Asp	Phe	Pro	Arg	Leu	Leu	His	Ala	Thr	Pro	Glu	Ala	Tyr	Arg	Pro	
			420					425					430			
tta	aga	cag	ttt	ttt	ggg	gat	gag	caa	cca	aag	agc	tac	tgg	cat	ttt	1344
Leu	Arg	Gln	Phe	Phe	Gly	Asp	Glu	Gln	Pro	Lys	Ser	Tyr	Trp	His	Phe	
		435					440					445				
gta	aac	tcg	gta	gaa	ggt	ata	acc	gga	ctt	gtg	atg	gtt	ttg	tta	atg	1392
Val	Asn	Ser	Val	Glu	Gly	Ile	Thr	Gly	Leu	Val	Met	Val	Leu	Leu	Met	
	450					455					460					
gcg	att	gca	ttc	aca	cta	gcc	acg	cct	tgg	ttc	aga	aga	ggg	aag	cta	1440
Ala	Ile	Ala	Phe	Thr	Leu	Ala	Thr	Pro	Trp	Phe	Arg	Arg	Gly	Lys	Leu	
465					470					475					480	
aac	tat	ctt	cca	gga	cca	tta	aag	aaa	cta	gct	agc	ttc	aat	gcc	ttc	1488
Asn	Tyr	Leu	Pro	Gly	Pro	Leu	Lys	Lys	Leu	Ala	Ser	Phe	Asn	Ala	Phe	
				485					490					495		
tgg	tac	act	cat	cat	ttg	ttt	gtc	ata	gtc	tac	att	ctt	ctt	gtt	gct	1536
Trp	Tyr	Thr	His	His	Leu	Phe	Val	Ile	Val	Tyr	Ile	Leu	Leu	Val	Ala	
				500				505						510		
cat	gga	tac	tac	ttg	tat	ctc	acc	aga	gac	tgg	cac	aat	aaa	acg	act	1584
His	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Tyr	Leu	Thr	Arg	Asp	Trp	His	Asn	Lys	Thr	Thr	
				515			520						525			
tgg	atg	tat	ttg	gtg	gta	cca	gtg	gtt	cta	tac	gcg	tgt	gaa	agg	ttg	1632
Trp	Met	Tyr	Leu	Val	Val	Pro	Val	Val	Leu	Tyr	Ala	Cys	Glu	Arg	Leu	
	530					535					540					

55

ata aga gca ttc agg tcg agc atc aag gcg gtg act att agg aaa gta	1680
Ile Arg Ala Phe Arg Ser Ser Ile Lys Ala Val Thr Ile Arg Lys Val	
545 550 555 560	
gca gtt tat cca gga aac gtg ctg gca att cac ttg tca agg cct caa	1728
Ala Val Tyr Pro Gly Asn Val Leu Ala Ile His Leu Ser Arg Pro Gln	
565 570 575	
aac ttc aaa tac aag agt ggt caa tac atg ttt gtt aac tgt gct gct	1776
Asn Phe Lys Tyr Lys Ser Gly Gln Tyr Met Phe Val Asn Cys Ala Ala	
580 585 590	
gtt tct cca ttt gaa tgg cat cca ttt tca atc aca tct gca cca caa	1824
Val Ser Pro Phe Glu Trp His Pro Phe Ser Ile Thr Ser Ala Pro Gln	
595 600 605	
gat gat tac cta agt gtt cac att aga gtt ctt ggg gat tgg aca cga	1872
Asp Asp Tyr Leu Ser Val His Ile Arg Val Leu Gly Asp Trp Thr Arg	
610 615 620	
gct ctc aaa gga gtc ttc tct gag gtg tgt aag cca cca ccg gca gga	1920
Ala Leu Lys Gly Val Phe Ser Glu Val Cys Lys Pro Pro Pro Ala Gly	
625 630 635 640	
gtt agt ggt ctg ctt aga gcc gac atg ttg cat ggt gca aat aat ccc	1968
Val Ser Gly Leu Leu Arg Ala Asp Met Leu His Gly Ala Asn Asn Pro	
645 650 655	
gac ttc ccg aaa gtc ttg att gat ggt cca tat ggt gca cca gca caa	2016
Asp Phe Pro Lys Val Leu Ile Asp Gly Pro Tyr Gly Ala Pro Ala Gln	
660 665 670	
gac tac aag aag tac gag gtg gtt cta cta gtt ggt ctc ggg att gga	2064
Asp Tyr Lys Lys Tyr Glu Val Val Leu Leu Val Gly Leu Gly Ile Gly	
675 680 685	
gcc aca cca atg atc agt atc gtc aaa gac att gtt aat aac atc aag	2112
Ala Thr Pro Met Ile Ser Ile Val Lys Asp Ile Val Asn Asn Ile Lys	
690 695 700	
gcc aag gaa caa gcc caa cta aac cga atg gag aat gga aca agc gaa	2160
Ala Lys Glu Gln Ala Gln Leu Asn Arg Met Glu Asn Gly Thr Ser Glu	
705 710 715 720	
cca caa cga agt aag aaa gag agt ttc agg acc cgt aga gct tac ttc	2208
Pro Gln Arg Ser Lys Lys Glu Ser Phe Arg Thr Arg Arg Ala Tyr Phe	
725 730 735	
tat tgg gtt acg cgt gag caa ggc tct ttc gat tgg ttc aag aac ata	2256
Tyr Trp Val Thr Arg Glu Gln Gly Ser Phe Asp Trp Phe Lys Asn Ile	
740 745 750	
atg aac gaa gtc gcg gaa cga gat gcc aac cgc gtc atc gaa atg cat	2304
Met Asn Glu Val Ala Glu Arg Asp Ala Asn Arg Val Ile Glu Met His	
755 760 765	
aac tat tgt aca agt gtc tat gaa gaa ggt gac gct cgt tcc gca ctt	2352
Asn Tyr Cys Thr Ser Val Tyr Glu Glu Gly Asp Ala Arg Ser Ala Leu	
770 775 780	
ata cat atg ctt caa tca cta aac cat gca aag aac ggc gtc gac att	2400
Ile His Met Leu Gln Ser Leu Asn His Ala Lys Asn Gly Val Asp Ile	
785 790 795 800	
gtc tct gga aca aga gtt atg tcc cat ttc gct aaa cct aat tgg aga	2448
Val Ser Gly Thr Arg Val Met Ser His Phe Ala Lys Pro Asn Trp Arg	
805 810 815	

56

aat gtt tac aag cgt ata gct atg gat cat cct aac acc aaa gtt gga 2496  
 Asn Val Tyr Lys Arg Ile Ala Met Asp His Pro Asn Thr Lys Val Gly  
 820 825 830

gtg ttt tac tgt gga gca cca gca ttg aca aag gag cta agg cat cta 2544  
 Val Phe Tyr Cys Gly Ala Pro Ala Leu Thr Lys Glu Leu Arg His Leu  
 835 840 845

gct tta gat ttc acc cac aaa aca agc acc aga ttc tcc ttc cac aaa 2592  
 Ala Leu Asp Phe Thr His Lys Thr Ser Thr Arg Phe Ser Phe His Lys  
 850 855 860

gag aat ttc taa 2604  
 Glu Asn Phe  
 865

<210> 20

<211> 867

<212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 20

Met Ser Arg Val Ser Phe Glu Val Ser Gly Gly Tyr His Ser Asp Ala  
 1 5 10 15

Glu Ala Gly Asn Ser Gly Pro Met Ser Gly Gly Gln Leu Pro Pro Ile  
 20 25 30

Tyr Lys Lys Pro Gly Asn Ser Arg Phe Thr Ala Glu Asn Ser Gln Arg  
 35 40 45

Thr Arg Thr Ala Pro Tyr Val Asp Leu Thr Val Asp Val Gln Asp Asp  
 50 55 60

Thr Val Ser Val His Ser Leu Lys Met Glu Gly Gly Ser Ser Val Glu  
 65 70 75 80

Glu Ser Pro Glu Leu Thr Leu Leu Lys Arg Asn Arg Leu Glu Lys Lys  
 85 90 95

Thr Thr Val Val Lys Arg Leu Ala Ser Val Ser His Glu Leu Lys Arg  
 100 105 110

Leu Thr Ser Val Ser Gly Gly Ile Gly Gly Arg Lys Pro Pro Arg Pro  
 115 120 125

Ala Lys Leu Asp Arg Thr Lys Ser Ala Ala Ser Gln Ala Leu Lys Gly  
 130 135 140

Leu Lys Phe Ile Ser Lys Thr Asp Gly Gly Ala Gly Trp Ser Ala Val  
 145 150 155 160

Glu Lys Arg Phe Asn Gln Ile Thr Ala Thr Thr Gly Gly Leu Leu Leu  
 165 170 175

Arg Thr Lys Phe Gly Glu Cys Ile Gly Met Thr Ser Lys Asp Phe Ala  
 180 185 190

Leu Glu Leu Phe Asp Ala Leu Ala Arg Arg Arg Asn Ile Thr Gly Glu  
 195 200 205

Val Ile Asp Gly Asp Gln Leu Lys Glu Phe Trp Glu Gln Ile Asn Asp  
 210 215 220

Gln Ser Phe Asp Ser Arg Leu Lys Thr Phe Phe Asp Met Val Asp Lys  
 225 230 235 240

Asp Ala Asp Gly Arg Leu Thr Glu Asp Glu Val Arg Glu Leu Glu Ser  
 245 250 255

Leu	Glu	Thr	Leu	Leu	Leu	Gln	Ala	Ala	Thr	Gln	Ser	Val	Ile	Thr	Ser	
			260					265					270			
Thr	Gly	Glu	Arg	Lys	Asn	Leu	Ser	His	Met	Met	Ser	Gln	Arg	Leu	Lys	
		275					280					285				
Pro	Thr	Phe	Asn	Arg	Asn	Pro	Leu	Lys	Arg	Trp	Tyr	Arg	Gly	Leu	Arg	
	290					295					300					
Phe	Phe	Leu	Leu	Asp	Asn	Trp	Gln	Arg	Cys	Trp	Val	Ile	Val	Leu	Trp	
305					310					315					320	
Phe	Ile	Val	Met	Ala	Ile	Leu	Phe	Thr	Tyr	Lys	Tyr	Ile	Gln	Tyr	Arg	
			325					330						335		
Arg	Ser	Pro	Val	Tyr	Pro	Val	Met	Gly	Asp	Cys	Val	Cys	Met	Ala	Lys	
			340					345				350				
Gly	Ala	Ala	Glu	Thr	Val	Lys	Leu	Asn	Met	Ala	Leu	Ile	Leu	Leu	Pro	
	355						360					365				
Val	Cys	Arg	Asn	Thr	Ile	Thr	Trp	Leu	Arg	Asn	Lys	Thr	Arg	Leu	Gly	
	370					375					380					
Arg	Val	Val	Pro	Phe	Asp	Asp	Asn	Leu	Asn	Phe	His	Lys	Val	Ile	Ala	
385					390					395					400	
Val	Gly	Ile	Ile	Val	Gly	Val	Thr	Met	His	Ala	Gly	Ala	His	Leu	Ala	
			405					410						415		
Cys	Asp	Phe	Pro	Arg	Leu	Leu	His	Ala	Thr	Pro	Glu	Ala	Tyr	Arg	Pro	
			420					425					430			
Leu	Arg	Gln	Phe	Phe	Gly	Asp	Glu	Gln	Pro	Lys	Ser	Tyr	Trp	His	Phe	
		435					440					445				
Val	Asn	Ser	Val	Glu	Gly	Ile	Thr	Gly	Leu	Val	Met	Val	Leu	Leu	Met	
	450					455					460					
Ala	Ile	Ala	Phe	Thr	Leu	Ala	Thr	Pro	Trp	Phe	Arg	Arg	Gly	Lys	Leu	
465					470					475					480	
Asn	Tyr	Leu	Pro	Gly	Pro	Leu	Lys	Lys	Leu	Ala	Ser	Phe	Asn	Ala	Phe	
			485						490				495			
Trp	Tyr	Thr	His	His	Leu	Phe	Val	Ile	Val	Tyr	Ile	Leu	Leu	Val	Ala	
			500					505				510				
His	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Tyr	Leu	Thr	Arg	Asp	Trp	His	Asn	Lys	Thr	Thr	
	515						520					525				
Trp	Met	Tyr	Leu	Val	Val	Pro	Val	Val	Leu	Tyr	Ala	Cys	Glu	Arg	Leu	
	530					535					540					
Ile	Arg	Ala	Phe	Arg	Ser	Ser	Ile	Lys	Ala	Val	Thr	Ile	Arg	Lys	Val	
545					550					555					560	
Ala	Val	Tyr	Pro	Gly	Asn	Val	Leu	Ala	Ile	His	Leu	Ser	Arg	Pro	Gln	
			565						570					575		
Asn	Phe	Lys	Tyr	Lys	Ser	Gly	Gln	Tyr	Met	Phe	Val	Asn	Cys	Ala	Ala	
			580					585				590				
Val	Ser	Pro	Phe	Glu	Trp	His	Pro	Phe	Ser	Ile	Thr	Ser	Ala	Pro	Gln	
		595					600					605				
Asp	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	His	Ile	Arg	Val	Leu	Gly	Asp	Trp	Thr	Arg	
	610					615					620					
Ala	Leu	Lys	Gly	Val	Phe	Ser	Glu	Val	Cys	Lys	Pro	Pro	Pro	Ala	Gly	
625					630					635					640	

58

Val Ser Gly Leu Leu Arg Ala Asp Met Leu His Gly Ala Asn Asn Pro  
 645 650 655  
 Asp Phe Pro Lys Val Leu Ile Asp Gly Pro Tyr Gly Ala Pro Ala Gln  
 660 665 670  
 Asp Tyr Lys Lys Tyr Glu Val Val Leu Leu Val Gly Leu Gly Ile Gly  
 675 680 685  
 Ala Thr Pro Met Ile Ser Ile Val Lys Asp Ile Val Asn Asn Ile Lys  
 690 695 700  
 Ala Lys Glu Gln Ala Gln Leu Asn Arg Met Glu Asn Gly Thr Ser Glu  
 705 710 715 720  
 Pro Gln Arg Ser Lys Lys Glu Ser Phe Arg Thr Arg Arg Ala Tyr Phe  
 725 730 735  
 Tyr Trp Val Thr Arg Glu Gln Gly Ser Phe Asp Trp Phe Lys Asn Ile  
 740 745 750  
 Met Asn Glu Val Ala Glu Arg Asp Ala Asn Arg Val Ile Glu Met His  
 755 760 765  
 Asn Tyr Cys Thr Ser Val Tyr Glu Glu Gly Asp Ala Arg Ser Ala Leu  
 770 775 780  
 Ile His Met Leu Gln Ser Leu Asn His Ala Lys Asn Gly Val Asp Ile  
 785 790 795 800  
 Val Ser Gly Thr Arg Val Met Ser His Phe Ala Lys Pro Asn Trp Arg  
 805 810 815  
 Asn Val Tyr Lys Arg Ile Ala Met Asp His Pro Asn Thr Lys Val Gly  
 820 825 830  
 Val Phe Tyr Cys Gly Ala Pro Ala Leu Thr Lys Glu Leu Arg His Leu  
 835 840 845  
 Ala Leu Asp Phe Thr His Lys Thr Ser Thr Arg Phe Ser Phe His Lys  
 850 855 860  
 Glu Asn Phe  
 865

&lt;210&gt; 21

&lt;211&gt; 2709

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Arabidopsis thaliana

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(2706)

&lt;223&gt; coding for NADPH-oxidase

&lt;400&gt; 21

atg atg aat cga agt gaa atg caa aag tta ggt ttc gaa cac gtg aga 48  
 Met Met Asn Arg Ser Glu Met Gln Lys Leu Gly Phe Glu His Val Arg  
 1 5 10 15

tac tac aca gag tcg ccg tac aac aga gga gag tcc tcg gcg aac gtg 96  
 Tyr Tyr Thr Glu Ser Pro Tyr Asn Arg Gly Glu Ser Ser Ala Asn Val  
 20 25 30

gcg acg aca agc aac tat tac ggt gaa gat gaa cca tac gtg gag atc 144  
 Ala Thr Thr Ser Asn Tyr Tyr Gly Glu Asp Glu Pro Tyr Val Glu Ile  
 35 40 45

acg	cta	gat	atc	cac	gac	gat	tcc	gtc	tcc	gtg	tac	ggc	ttg	aag	tca	192
Thr	Leu	Asp	Ile	His	Asp	Asp	Ser	Val	Ser	Val	Tyr	Gly	Leu	Lys	Ser	
50						55					60					
ccg	aac	cat	cga	ggg	gcc	ggg	tct	aat	tat	gag	gat	caa	tcg	ctt	ctc	240
Pro	Asn	His	Arg	Gly	Ala	Gly	Ser	Asn	Tyr	Glu	Asp	Gln	Ser	Leu	Leu	
65				70						75					80	
aga	caa	ggt	cgt	tca	ggg	agg	agt	aac	tcg	gta	ttg	aaa	cgc	ttg	gct	288
Arg	Gln	Gly	Arg	Ser	Gly	Arg	Ser	Asn	Ser	Val	Leu	Lys	Arg	Leu	Ala	
				85					90					95		
tct	tct	gtt	tcc	acc	gga	ata	aca	cga	gtt	gct	tct	tct	gtt	tct	tcg	336
Ser	Ser	Val	Ser	Thr	Gly	Ile	Thr	Arg	Val	Ala	Ser	Ser	Val	Ser	Ser	
			100					105					110			
tct	tcc	gcg	aga	aaa	cca	ccg	cgg	ccg	cag	ctg	gct	aag	ctg	cgc	cgt	384
Ser	Ser	Ala	Arg	Lys	Pro	Pro	Arg	Pro	Gln	Leu	Ala	Lys	Leu	Arg	Arg	
		115					120					125				
tcg	aaa	tct	aga	gca	gag	cta	gct	ctc	aaa	ggt	ctt	aaa	ttc	atc	acc	432
Ser	Lys	Ser	Arg	Ala	Glu	Leu	Ala	Leu	Lys	Gly	Leu	Lys	Phe	Ile	Thr	
	130					135					140					
aag	act	gat	ggt	gtc	act	ggt	tgg	cct	gaa	gtt	gag	aaa	cgg	ttt	tat	480
Lys	Thr	Asp	Gly	Val	Thr	Gly	Trp	Pro	Glu	Val	Glu	Lys	Arg	Phe	Tyr	
	145				150					155					160	
gtg	atg	aca	atg	act	aat	aac	gga	tta	tta	cac	cga	tcc	aga	ttc	ggt	528
Val	Met	Thr	Met	Thr	Asn	Asn	Gly	Leu	Leu	His	Arg	Ser	Arg	Phe	Gly	
				165				170						175		
gaa	tgt	ata	ggg	atg	aaa	tcg	acg	gag	ttt	gcg	ttg	gca	ttg	ttc	gat	576
Glu	Cys	Ile	Gly	Met	Lys	Ser	Thr	Glu	Phe	Ala	Leu	Ala	Leu	Phe	Asp	
			180					185					190			
gct	tta	gcg	agg	agg	gaa	aac	gta	agc	gga	gat	tca	ata	aac	atg	aat	624
Ala	Leu	Ala	Arg	Arg	Glu	Asn	Val	Ser	Gly	Asp	Ser	Ile	Asn	Met	Asn	
			195				200					205				
gag	ctt	aaa	gag	ttc	tgg	aag	cag	atc	act	gat	caa	gat	ttt	gat	tca	672
Glu	Leu	Lys	Glu	Phe	Trp	Lys	Gln	Ile	Thr	Asp	Gln	Asp	Phe	Asp	Ser	
	210					215					220					
agg	cta	cga	act	ttc	ttc	gcc	atg	gtc	gat	aag	gat	tcg	gat	ggg	cgg	720
Arg	Leu	Arg	Thr	Phe	Phe	Ala	Met	Val	Asp	Lys	Asp	Ser	Asp	Gly	Arg	
	225				230					235					240	
ttg	aat	gaa	gcc	gaa	gta	aga	gag	att	ata	act	tta	agt	gct	tct	gca	768
Leu	Asn	Glu	Ala	Glu	Val	Arg	Glu	Ile	Ile	Thr	Leu	Ser	Ala	Ser	Ala	
				245					250					255		
aac	gag	ttg	gat	aac	att	cgg	aga	caa	gct	gat	gaa	tat	gct	gct	ttg	816
Asn	Glu	Leu	Asp	Asn	Ile	Arg	Arg	Gln	Ala	Asp	Glu	Tyr	Ala	Ala	Leu	
			260					265					270			
att	atg	gaa	gaa	ctc	gat	cct	tat	cat	tat	gga	tac	atc	atg	ata	gag	864
Ile	Met	Glu	Glu	Leu	Asp	Pro	Tyr	His	Tyr	Gly	Tyr	Ile	Met	Ile	Glu	
			275				280					285				
aat	ctc	gag	ata	ctt	cta	ttg	caa	gcg	ccg	atg	cag	gat	gtg	aga	gat	912
Asn	Leu	Glu	Ile	Leu	Leu	Leu	Gln	Ala	Pro	Met	Gln	Asp	Val	Arg	Asp	
	290					295					300					
gga	gag	agt	aag	aag	cta	agc	aag	atg	cta	agt	cag	aat	ctc	atg	gtt	960
Gly	Glu	Ser	Lys	Lys	Leu	Ser	Lys	Met	Leu	Ser	Gln	Asn	Leu	Met	Val	
	305				310					315					320	

ccg cag agt agg aat ctc ggg gca cgt ttt tgc aga ggg atg aag tat	1008
Pro Gln Ser Arg Asn Leu Gly Ala Arg Phe Cys Arg Gly Met Lys Tyr	
325 330 335	
ttt ttg ttt gat aat tgg aag aga gtg tgg gtg atg gct cta tgg ata	1056
Phe Leu Phe Asp Asn Trp Lys Arg Val Trp Val Met Ala Leu Trp Ile	
340 345 350	
ggg gct atg gcg ggt ttg ttc acg tgg aag ttt atg gag tat cga aaa	1104
Gly Ala Met Ala Gly Leu Phe Thr Trp Lys Phe Met Glu Tyr Arg Lys	
355 360 365	
aga tcc gct tac gaa gtc atg gga gtt tgt gtt tgt ata gct aaa gga	1152
Arg Ser Ala Tyr Glu Val Met Gly Val Cys Val Cys Ile Ala Lys Gly	
370 375 380	
gct gca gag acg ctt aaa cta aac atg gct atg att ttg tta cca gtt	1200
Ala Ala Glu Thr Leu Lys Leu Asn Met Ala Met Ile Leu Leu Pro Val	
385 390 395 400	
tgt agg aac acc atc act tgg ctg cgg acc aaa acc aag tta agt gct	1248
Cys Arg Asn Thr Ile Thr Trp Leu Arg Thr Lys Thr Lys Leu Ser Ala	
405 410 415	
att gtt cct ttc gat gac agc ctc aat ttt cac aag gtc ata gct ata	1296
Ile Val Pro Phe Asp Asp Ser Leu Asn Phe His Lys Val Ile Ala Ile	
420 425 430	
gga att tca gtt gga gtt gga atc cat gct aca tct cac tta gca tgt	1344
Gly Ile Ser Val Gly Val Gly Ile His Ala Thr Ser His Leu Ala Cys	
435 440 445	
gat ttc ccc cga ctg ata gct gca gac gaa gat cag tat gag cca atg	1392
Asp Phe Pro Arg Leu Ile Ala Ala Asp Glu Asp Gln Tyr Glu Pro Met	
450 455 460	
gag aag tat ttt ggg cca cag aca aag aga tat ttg gac ttt gtt caa	1440
Glu Lys Tyr Phe Gly Pro Gln Thr Lys Arg Tyr Leu Asp Phe Val Gln	
465 470 475 480	
tcg gta gaa gga gtt acc ggg att gga atg gtt gta cta atg acc ata	1488
Ser Val Glu Gly Val Thr Gly Ile Gly Met Val Val Leu Met Thr Ile	
485 490 495	
gcc ttt aca ttg gct aca aca tgg ttc aga cgt aat aag ctc aac ctt	1536
Ala Phe Thr Leu Ala Thr Thr Trp Phe Arg Arg Asn Lys Leu Asn Leu	
500 505 510	
cct gga cca ctg aag aaa ata aca ggc ttc aat gcc ttc tgg tac tct	1584
Pro Gly Pro Leu Lys Lys Ile Thr Gly Phe Asn Ala Phe Trp Tyr Ser	
515 520 525	
cac cac tta ttt gtt atc gtc tac tcg ctt ctt gtc gtt cat gga ttc	1632
His His Leu Phe Val Ile Val Tyr Ser Leu Leu Val Val His Gly Phe	
530 535 540	
tac gta tac ctc atc atc gag cca tgg tac aag aaa acg aca tgg atg	1680
Tyr Val Tyr Leu Ile Ile Glu Pro Trp Tyr Lys Lys Thr Thr Trp Met	
545 550 555 560	
tat ttg atg gta ccg gtg gtt ctt tac ttg tgt gaa agg ctg att cgt	1728
Tyr Leu Met Val Pro Val Val Leu Tyr Leu Cys Glu Arg Leu Ile Arg	
565 570 575	
gca ttc agg tca agc gtc gag gct gtt tca gtg cta aag gtt gct gtg	1776
Ala Phe Arg Ser Ser Val Glu Ala Val Ser Val Leu Lys Val Ala Val	
580 585 590	

tta cca ggg aat gtc ttg tgc ctt cac ttg tca aga cca agc aac ttc	1824
Leu Pro Gly Asn Val Leu Ser Leu His Leu Ser Arg Pro Ser Asn Phe	
595 600 605	
aga tac aag agt gga caa tac atg tat ctc aac tgt tct gca gtt tct	1872
Arg Tyr Lys Ser Gly Gln Tyr Met Tyr Leu Asn Cys Ser Ala Val Ser	
610 615 620	
aca tta gaa tgg cat cca ttc tca att acc tca gct cca gga gat gac	1920
Thr Leu Glu Trp His Pro Phe Ser Ile Thr Ser Ala Pro Gly Asp Asp	
625 630 635 640	
tac ctc agt gtc cac atc agg gtt tta gga gac tgg act aag caa tta	1968
Tyr Leu Ser Val His Ile Arg Val Leu Gly Asp Trp Thr Lys Gln Leu	
645 650 655	
aga tca tta ttc tct gag gtg tgc aag cca cgc cct cct gat gaa cac	2016
Arg Ser Leu Phe Ser Glu Val Cys Lys Pro Arg Pro Pro Asp Glu His	
660 665 670	
aga ctg aac aga gcc gac tgc aag cac tgg gat tac atc cct gac ttt	2064
Arg Leu Asn Arg Ala Asp Ser Lys His Trp Asp Tyr Ile Pro Asp Phe	
675 680 685	
cca aga atc cta att gat ggt cca tat gga gca cca gca caa gac tac	2112
Pro Arg Ile Leu Ile Asp Gly Pro Tyr Gly Ala Pro Ala Gln Asp Tyr	
690 695 700	
aag aag ttt gaa gtt gtt ctg cta gtg ggt cta gga atc ggt gcc act	2160
Lys Lys Phe Glu Val Val Leu Leu Val Gly Leu Gly Ile Gly Ala Thr	
705 710 715 720	
ccg atg atc agc ata gtg agt gac ata atc aat aac ttg aaa ggc gtg	2208
Pro Met Ile Ser Ile Val Ser Asp Ile Ile Asn Asn Leu Lys Gly Val	
725 730 735	
gaa gaa ggc agt aac cga aga cag tca ccg atc cat aat atg gtc aca	2256
Glu Glu Gly Ser Asn Arg Arg Gln Ser Pro Ile His Asn Met Val Thr	
740 745 750	
cct cct gtt tct cca tca aga aaa agt gag acg ttc aga acc aag aga	2304
Pro Pro Val Ser Pro Ser Arg Lys Ser Glu Thr Phe Arg Thr Lys Arg	
755 760 765	
gct tac ttc tac tgg gtc aca aga gag cag ggg tgc ttt gac tgg ttc	2352
Ala Tyr Phe Tyr Trp Val Thr Arg Glu Gln Gly Ser Phe Asp Trp Phe	
770 775 780	
aag aac gtg atg gac gaa gtg act gaa aca gac cgc aaa aac gta att	2400
Lys Asn Val Met Asp Glu Val Thr Glu Thr Asp Arg Lys Asn Val Ile	
785 790 795 800	
gag ctg cat aat tac tgc acc agc gtt tac gag gaa ggg gac gcg agg	2448
Glu Leu His Asn Tyr Cys Thr Ser Val Tyr Glu Glu Gly Asp Ala Arg	
805 810 815	
tct gca ctt atc acg atg ctc cag tct cta aac cat gct aag cat gga	2496
Ser Ala Leu Ile Thr Met Leu Gln Ser Leu Asn His Ala Lys His Gly	
820 825 830	
gtg gac gtt gtg tca gga aca cgt gtc atg tcc cat ttc gct agg cca	2544
Val Asp Val Val Ser Gly Thr Arg Val Met Ser His Phe Ala Arg Pro	
835 840 845	
aac tgg aga agc gtt ttc aaa agg atc gct gtg aat cat cct aag act	2592
Asn Trp Arg Ser Val Phe Lys Arg Ile Ala Val Asn His Pro Lys Thr	
850 855 860	

62

aga gtc gga gtg ttt tat tgt gga gca gct ggg tta gtg aaa gag tta 2640  
 Arg Val Gly Val Phe Tyr Cys Gly Ala Ala Gly Leu Val Lys Glu Leu  
 865 870 875 880

cga cac tta tca ctg gat ttc tct cat aag acc tcc acc aag ttc atc 2688  
 Arg His Leu Ser Leu Asp Phe Ser His Lys Thr Ser Thr Lys Phe Ile  
 885 890 895

ttc cat aaa gag aat ttc taa 2709  
 Phe His Lys Glu Asn Phe  
 900

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 902

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Arabidopsis thaliana

&lt;400&gt; 22

Met Met Asn Arg Ser Glu Met Gln Lys Leu Gly Phe Glu His Val Arg  
 1 5 10 15

Tyr Tyr Thr Glu Ser Pro Tyr Asn Arg Gly Glu Ser Ser Ala Asn Val  
 20 25 30

Ala Thr Thr Ser Asn Tyr Tyr Gly Glu Asp Glu Pro Tyr Val Glu Ile  
 35 40 45

Thr Leu Asp Ile His Asp Asp Ser Val Ser Val Tyr Gly Leu Lys Ser  
 50 55 60

Pro Asn His Arg Gly Ala Gly Ser Asn Tyr Glu Asp Gln Ser Leu Leu  
 65 70 75 80

Arg Gln Gly Arg Ser Gly Arg Ser Asn Ser Val Leu Lys Arg Leu Ala  
 85 90 95

Ser Ser Val Ser Thr Gly Ile Thr Arg Val Ala Ser Ser Val Ser Ser  
 100 105 110

Ser Ser Ala Arg Lys Pro Pro Arg Pro Gln Leu Ala Lys Leu Arg Arg  
 115 120 125

Ser Lys Ser Arg Ala Glu Leu Ala Leu Lys Gly Leu Lys Phe Ile Thr  
 130 135 140

Lys Thr Asp Gly Val Thr Gly Trp Pro Glu Val Glu Lys Arg Phe Tyr  
 145 150 155 160

Val Met Thr Met Thr Asn Asn Gly Leu Leu His Arg Ser Arg Phe Gly  
 165 170 175

Glu Cys Ile Gly Met Lys Ser Thr Glu Phe Ala Leu Ala Leu Phe Asp  
 180 185 190

Ala Leu Ala Arg Arg Glu Asn Val Ser Gly Asp Ser Ile Asn Met Asn  
 195 200 205

Glu Leu Lys Glu Phe Trp Lys Gln Ile Thr Asp Gln Asp Phe Asp Ser  
 210 215 220

Arg Leu Arg Thr Phe Phe Ala Met Val Asp Lys Asp Ser Asp Gly Arg  
 225 230 235 240

Leu Asn Glu Ala Glu Val Arg Glu Ile Ile Thr Leu Ser Ala Ser Ala  
 245 250 255

Asn Glu Leu Asp Asn Ile Arg Arg Gln Ala Asp Glu Tyr Ala Ala Leu  
 260 265 270

63

Ile	Met	Glu	Glu	Leu	Asp	Pro	Tyr	His	Tyr	Gly	Tyr	Ile	Met	Ile	Glu	275	280	285
Asn	Leu	Glu	Ile	Leu	Leu	Leu	Gln	Ala	Pro	Met	Gln	Asp	Val	Arg	Asp	290	295	300
Gly	Glu	Ser	Lys	Lys	Leu	Ser	Lys	Met	Leu	Ser	Gln	Asn	Leu	Met	Val	305	310	315
Pro	Gln	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Ala	Arg	Phe	Cys	Arg	Gly	Met	Lys	Tyr	325	330	335
Phe	Leu	Phe	Asp	Asn	Trp	Lys	Arg	Val	Trp	Val	Met	Ala	Leu	Trp	Ile	340	345	350
Gly	Ala	Met	Ala	Gly	Leu	Phe	Thr	Trp	Lys	Phe	Met	Glu	Tyr	Arg	Lys	355	360	365
Arg	Ser	Ala	Tyr	Glu	Val	Met	Gly	Val	Cys	Val	Cys	Ile	Ala	Lys	Gly	370	375	380
Ala	Ala	Glu	Thr	Leu	Lys	Leu	Asn	Met	Ala	Met	Ile	Leu	Leu	Pro	Val	385	390	395
Cys	Arg	Asn	Thr	Ile	Thr	Trp	Leu	Arg	Thr	Lys	Thr	Lys	Leu	Ser	Ala	405	410	415
Ile	Val	Pro	Phe	Asp	Asp	Ser	Leu	Asn	Phe	His	Lys	Val	Ile	Ala	Ile	420	425	430
Gly	Ile	Ser	Val	Gly	Val	Gly	Ile	His	Ala	Thr	Ser	His	Leu	Ala	Cys	435	440	445
Asp	Phe	Pro	Arg	Leu	Ile	Ala	Ala	Asp	Glu	Asp	Gln	Tyr	Glu	Pro	Met	450	455	460
Glu	Lys	Tyr	Phe	Gly	Pro	Gln	Thr	Lys	Arg	Tyr	Leu	Asp	Phe	Val	Gln	465	470	475
Ser	Val	Glu	Gly	Val	Thr	Gly	Ile	Gly	Met	Val	Val	Leu	Met	Thr	Ile	485	490	495
Ala	Phe	Thr	Leu	Ala	Thr	Thr	Trp	Phe	Arg	Arg	Asn	Lys	Leu	Asn	Leu	500	505	510
Pro	Gly	Pro	Leu	Lys	Lys	Ile	Thr	Gly	Phe	Asn	Ala	Phe	Trp	Tyr	Ser	515	520	525
His	His	Leu	Phe	Val	Ile	Val	Tyr	Ser	Leu	Leu	Val	Val	His	Gly	Phe	530	535	540
Tyr	Val	Tyr	Leu	Ile	Ile	Glu	Pro	Trp	Tyr	Lys	Lys	Thr	Thr	Trp	Met	545	550	555
Tyr	Leu	Met	Val	Pro	Val	Val	Leu	Tyr	Leu	Cys	Glu	Arg	Leu	Ile	Arg	565	570	575
Ala	Phe	Arg	Ser	Ser	Val	Glu	Ala	Val	Ser	Val	Leu	Lys	Val	Ala	Val	580	585	590
Leu	Pro	Gly	Asn	Val	Leu	Ser	Leu	His	Leu	Ser	Arg	Pro	Ser	Asn	Phe	595	600	605
Arg	Tyr	Lys	Ser	Gly	Gln	Tyr	Met	Tyr	Leu	Asn	Cys	Ser	Ala	Val	Ser	610	615	620
Thr	Leu	Glu	Trp	His	Pro	Phe	Ser	Ile	Thr	Ser	Ala	Pro	Gly	Asp	Asp	625	630	635
Tyr	Leu	Ser	Val	His	Ile	Arg	Val	Leu	Gly	Asp	Trp	Thr	Lys	Gln	Leu	645	650	655

64

Arg	Ser	Leu	Phe	Ser	Glu	Val	Cys	Lys	Pro	Arg	Pro	Pro	Asp	Glu	His
			660					665					670		
Arg	Leu	Asn	Arg	Ala	Asp	Ser	Lys	His	Trp	Asp	Tyr	Ile	Pro	Asp	Phe
		675					680					685			
Pro	Arg	Ile	Leu	Ile	Asp	Gly	Pro	Tyr	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	Asp	Tyr
	690					695					700				
Lys	Lys	Phe	Glu	Val	Val	Leu	Leu	Val	Gly	Leu	Gly	Ile	Gly	Ala	Thr
705					710					715					720
Pro	Met	Ile	Ser	Ile	Val	Ser	Asp	Ile	Ile	Asn	Asn	Leu	Lys	Gly	Val
				725					730					735	
Glu	Glu	Gly	Ser	Asn	Arg	Arg	Gln	Ser	Pro	Ile	His	Asn	Met	Val	Thr
			740					745					750		
Pro	Pro	Val	Ser	Pro	Ser	Arg	Lys	Ser	Glu	Thr	Phe	Arg	Thr	Lys	Arg
		755					760					765			
Ala	Tyr	Phe	Tyr	Trp	Val	Thr	Arg	Glu	Gln	Gly	Ser	Phe	Asp	Trp	Phe
	770					775					780				
Lys	Asn	Val	Met	Asp	Glu	Val	Thr	Glu	Thr	Asp	Arg	Lys	Asn	Val	Ile
785					790					795					800
Glu	Leu	His	Asn	Tyr	Cys	Thr	Ser	Val	Tyr	Glu	Glu	Gly	Asp	Ala	Arg
			805						810					815	
Ser	Ala	Leu	Ile	Thr	Met	Leu	Gln	Ser	Leu	Asn	His	Ala	Lys	His	Gly
			820					825					830		
Val	Asp	Val	Val	Ser	Gly	Thr	Arg	Val	Met	Ser	His	Phe	Ala	Arg	Pro
	835						840					845			
Asn	Trp	Arg	Ser	Val	Phe	Lys	Arg	Ile	Ala	Val	Asn	His	Pro	Lys	Thr
	850					855					860				
Arg	Val	Gly	Val	Phe	Tyr	Cys	Gly	Ala	Ala	Gly	Leu	Val	Lys	Glu	Leu
865				870						875					880
Arg	His	Leu	Ser	Leu	Asp	Phe	Ser	His	Lys	Thr	Ser	Thr	Lys	Phe	Ile
			885						890					895	
Phe	His	Lys	Glu	Asn	Phe										
			900												

&lt;210&gt; 23

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:  
oligonucleotide primer

&lt;400&gt; 23

garcaaggct cttttgattg

20

&lt;210&gt; 24

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:  
oligonucleotide primer

65

<400> 24

gaaatgctcc ttatggaatt c

21

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESEN

## PCT

### INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

REC'D 18 OCT 2004

WIPO

PCT

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 0000053765	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/PEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/07589	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 14.07.2003	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 22.07.2002
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/82		
Anmelder BASF PLANT SCIENCE GMBH et al.		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.


2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 4 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

- ☐ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Bescheids
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Regel 66.2 a)ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags  23.01.2004	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  15.10.2004
Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde   Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter  Bilang, J Tel. +49 89 2399-8707



**I. Grundlage des Berichts**

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):

**Beschreibung, Seiten**

1-71 in der ursprünglich eingereichten Fassung

**Ansprüche, Nr.**

1-20 in der ursprünglich eingereichten Fassung

**Zeichnungen, Blätter**

1/1 in der ursprünglich eingereichten Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um:

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☒ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☒ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung,      Seiten:
- ☐ Ansprüche,      Nr.:
- ☐ Zeichnungen,      Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen.)*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

**V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

- |                                |   |
|--------------------------------|---|
| 1. Feststellung                |   |
| Neuheit (N)                    | Ja: Ansprüche 1-20<br>Nein: Ansprüche   |
| Erfinderische Tätigkeit (IS)   | Ja: Ansprüche 1-20<br>Nein: Ansprüche   |
| Gewerbliche Anwendbarkeit (IA) | Ja: Ansprüche: 1-20<br>Nein: Ansprüche: |

2. Unterlagen und Erklärungen:

**siehe Beiblatt**

1. Die vorliegende Anmeldung betrifft ein Verfahren zur Erhöhung der Pathogenresistenz bei Pflanzen durch Verminderung der Proteinmenge, Aktivität oder Funktion einer NADPH-Oxidase.  
Als Beispiel wird die erhöhte Resistenz von Gerstenpflanzen auf den echten Gerstenmehltau gezeigt.
2. Im zitierten Stand der Technik wird kein Verfahren, welches dem beanspruchten Verfahren entsprechen würde, offenbart. Aufgrund der zitierten Literatur würde der Fachmann erwarten, dass eine erhöhte Resistenz durch Erhöhung der NADPH-Oxidase erzielt werden könnte. Der Gegenstand der Ansprüche 1-10 kann daher als neu und auf einer erfinderischen Tätigkeit beruhend angesehen werden.
3. Der Fachmann hätte auch keine Motivation, die in den Ansprüchen 11-20 beanspruchten Doppelsträngigen RNA-Moleküle zur Verminderung der Expression einer NADPH-Oxidase herzustellen.
4. Andererseits ist es nicht klar, ob die beanspruchte Erfindung in ihrer ganzen Breite hergestellt werden kann. In der Anmeldung wird lediglich ein Beispiel gezeigt, in der eine bestimmte Kombination von Wirtspflanze und Pathogen eine erhöhte Resistenz zeigt. Daraus kann nicht abgeleitet werden, dass eine Verringerung der NADPH-Oxidase in jedem Fall zu einer erhöhten Pathogenresistenz führt. Da die vorliegende Anmeldung der allgemeinen Lehrmeinung widerspricht, scheint ein Ausführungsbeispiel nicht ausreichend, um diese Lehrmeinung zu widerlegen.